ANNALES

DE MICROGRAPHIE

TOURS. — IMPRIMERIE DESLIS FRÈRES

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

SPÉCIALEMENT CONSACRÉES

A LA BACTÉRIOLOGIE
AUX PROTOPHYTES ET AUX PROTOZOAIRES

RÉDACTEUR PRINCIPAL

P. MIQUEL, Docteur en médecine, Docteur ès-Sciences
Chef du Service micrographique à l'Observatoire municipal de Montsouris

SECRÉTAIRES DE LA RÉDACTION

FABRE-DOMERGUE, Docteur ès-Sciences, Directeur adjoint du laboratoire de Zoologie maritime de Concarneau.

Ed. DE FREUDENREICH, Chef du Service bactériologique de l'école de laiterie de la Rütti (Berne).

TOME CINQUIÈME
1893

PARIS

GEORGES CARRÉ, ÉDITEUR

3, RUE RACINE, 3



ANNALES
DE MICROGRAPHIE

NOUVELLES RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA MÉROTOMIE DES INFUSOIRES CILIÉS

Par E.-G. BALBIANI



Deuxième partie (1)

Stentor polymorphus et St. igneus

La première de ces deux espèces possède comme le *St. cœruleus* un long noyau en chapelet, composé le plus ordinairement de 10 à 12 grains, rarement plus ou moins ; tandis que la seconde renferme un noyau simple, arrondi ou ovalaire.

Les résultats obtenus par mérotomie chez le *St. polymorphus* peuvent être considérés comme identiques avec ceux que j'ai décrits chez le *St. cœruleus*. La régénération des fragments contenant un noyau se fait avec la même facilité que chez ce dernier, tandis que les fragments sans noyau se détruisent sans se régénérer au bout de 1 à 2 jours, comme on l'observe également chez le *St. cœruleus*.

Je n'aurais, par conséquent, rien de plus à ajouter à ce qui a été dit au sujet de cette dernière espèce si je n'avais à rapporter une observation qui semble au premier abord infirmer tout ce qui a été dit antérieurement relativement au rôle du noyau dans les manifestations vitales de la cellule.

Le 11 février 1888, je rencontrai dans une vieille

(1) Voy., pour la première partie, le tome IV, n°s 8 à 10, 1892, des *Annales de Micrographie*.

eau de mare, recueillie un mois auparavant au Jardin des plantes de Paris, un exemplaire de *St. polymorphus*, qui me frappa immédiatement par le grand développement de son noyau. Celui-ci formait un chapelet de huit articles, dont chacun avait un volume double ou triple du volume ordinaire. Chaque article représentait une sorte de vésicule ovalaire ou sphérique, qui, vue à un faible grossissement, au lieu de la masse finement granuleuse formant le contenu ordinaire du noyau des Stentors, paraissait remplie de petits bâtonnets courts, incolores, entre-

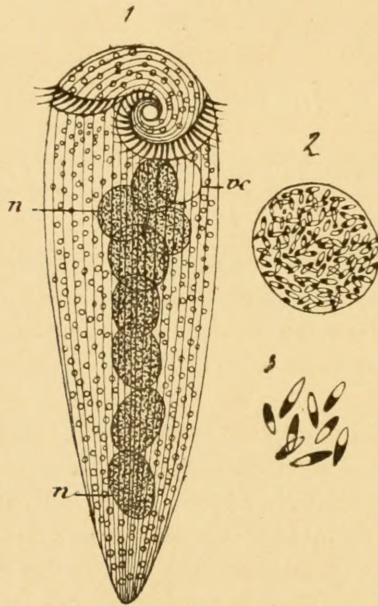


Fig. 1. *Stentor polymorphus*, dont le noyau *n*, *n* est envahi par des *Holospora* parasites ; *vc*, vésicule contr ctile. — *Fig.* 2. Un des articles du noyau plus grossi. — *Fig.* 3. Spores de *Holospora* très grossies.

croisés dans tous les sens (*fig*, 1, *n*, *n*, ci-dessus). Les bâtonnets formaient à l'intérieur de l'article une masse qui, à raison de leur accumulation plus grande, présentait par places un aspect tacheté. Pour se faire une idée plus exacte de leur structure, il fallait isoler quelques articles et déterminer par compression la rupture de la vésicule qui renfermait ces petits éléments (*fig*. 2). Ceux-ci s'échappaient alors en s'isolant les uns des autres et se répandant dans

toutes les parties du liquide ambiant. Observés à un fort grossissement, ils se présentent comme de petits corps fusiformes, longs de $0^{mm},006$, incolores, à contour net et foncé, dépourvus de mouvements spontanés (*fig.* 3). Leur aspect n'est pas homogène, mais présente dans le tiers ou la moitié de leur longueur une partie foncée assez réfringente, et dans le reste une partie claire et transparente. Ce sont évidemment des organismes parasites, rappelant plus particulièrement les espèces formant le groupe des Holosporées, intermédiaire entre les Bactériacés et les Blastomycètes ou levures, dont plusieurs ont pour habitat le nucleus et le micronucleus des Paramécies (1). La substance nucléaire avait complètement ou presque complètement disparu dans les articles du noyau; peut-être un dernier reste subsistait-il sous forme de fines granulations répandues dans les intervalles des corpuscules. J'ai malheureusement négligé de m'en assurer en essayant l'action des réactifs de la chromatine sur le noyau (2).

L'intérêt de cette observation ne consiste pas tant dans la constatation, à l'intérieur du noyau du *Stentor polymorphus*, d'un parasite appartenant au genre *Holospora* (3), que dans ce fait que, malgré la disparition de la substance nucléaire sous l'influence du parasite, l'animal avait conservé un aspect parfaitement normal, ne présentait aucune trace de dégénérescence dans son plasma, et continuait à exercer toutes les fonctions des Stentors ordinaires. Les globules verts de *Zoochlorella*, hôte habituels du *St. polymorphus*, n'étaient, non plus, ni plus ni moins abondants que chez ces derniers. L'altération profonde que le noyau avait

(1) Voy. M. W. Hafkine, Maladies infectieuses des Paramécies. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. IV, n° 3, 25 mars 1890.

(2) Dans le noyau des Paramécies, si fréquemment envahi par l'*Holospora obtusa*, je me suis assuré que le noyau se colorait tantôt encore d'une manière plus ou moins intense par le vert de méthyle, tantôt restait complètement incolore sous l'action de ce réactif, suivant que le parasite avait épuisé toute la substance nucléaire ou en laissait encore subsister une quantité variable. Hafkine a fait des observations semblables sur ces variations dans la coloration du noyau ou du micronucleus envahi par les *Holospora*, et les met en relation avec les états de maturation du parasite.

(3) C'est évidemment un parasite appartenant à ce groupe que Stein a observé, et figuré chez le *Stentor Roeselii* (*Der Organismus der Infusionsthiere*. II. Abth., p. 258, pl. VII, fig. 7 ; pl. VIII, fig. 13 et 14).


MARINE BIOLOGICAL LABORATORY
LIBRARY
Mass.

subie dans sa structure pouvant être interprétée comme équivalente à son ablation artificielle, il était légitime d'en induire qu'elle entraînerait les mêmes conséquences que cette dernière pour la vie de l'animal. Pourtant il n'y a pas identité complète entre les deux cas. Dans le premier, une petite quantité de substance nucléaire pouvait très bien subsister encore dans le noyau, tandis que, dans le second, toute trace de cette substance est éliminée avec le noyau lui-même. Or il résulte de nos expériences que la plus minime proportion de cette substance suffit pour entretenir la vie comme fait le noyau tout entier.

Une autre hypothèse consiste à admettre que la substance nucléaire avait complètement disparu sous l'action du parasite, et que notre animal, au moment où nous l'avons rencontré, se trouvait encore dans le délai où la vie normale est compatible avec l'abolition des fonctions du noyau (1). Quelle que soit celle de ces deux explications que l'on voudra choisir, on voit qu'on n'est nullement autorisé à faire de la rencontre de notre animalcule un argument contre la validité des faits établis par nos expériences. La désorganisation parasitaire du noyau s'observe aussi, et plus fréquemment, chez d'autres espèces de Ciliés, notamment chez les Paramécies. En nous occupant plus loin de ces dernières espèces, nous reviendrons sur cette comparaison entre le développement intranucléaire de parasites et la soustraction expérimentale du noyau.

Ce n'est pas sans une certaine hésitation que je caractérise l'autre espèce de *Stentor* comme appartenant au *St. igneus* plutôt qu'au *St. niger*. On sait que ces deux espèces ont souvent été confondues l'une avec l'autre, d'abord par EHRENBERG, tout le premier, puis par PERTY, SCHMARDA, EICHWALD, WEISSE et STEIN lui-même dans ses premiers travaux (2). Les exemplaires que j'ai eus sous les

---

(1) Dans nos expériences sur le *St. cœruleus*, ce délai était de 24 à 48 heures, mais il s'agissait ici de fragments obtenus par division artificielle, présentant par conséquent une vulnération qui pouvait très bien abréger la durée de la survie de ces fragments, tandis que l'exemplaire dont il est parlé ci-dessus était bien entier et sans blessure aucune pouvant diminuer ses chances de survie.

(2) STEIN, *Der Organismus der Infusionsthiere*, I. Abth., p. 64, 1859. Dans la deuxième partie de cet ouvrage (1867), les deux espèces sont au contraire soigneusement distinguées l'une de l'autre.

yeux, en diverses saisons et toujours en grande abondance, provenaient tous de la même localité : la grande mare carrée du Jardin des plantes de Paris, où ils vivaient au milieu d'une abondante végétation de conferves, de *Myriophyllum*, etc. Ils se sont toujours présentés à moi avec les mêmes caractères morphologiques et physiologiques. Du *St. igneus*, ils avaient la taille médiocre, inférieure à celle des *St. cæruleus* et *polymorphus*, la faible contractilité totale (spastique), et surtout la coloration verte, due à la présence de nombreux globules (*Zoochlorella*) dans le plasma. Quant à la pigmentation, cause de la teinte rouge de feu qui a valu sa dénomination spécifique à cette espèce, elle était remplacée par une coloration noirâtre de tout le plasma, déterminée par un abondant dépôt de granulations foncées, fines, formant surtout autour du noyau une couche épaisse de pigment noir sous laquelle celui-ci disparaissait complètement. Or cette coloration foncée, retrouvée par tous les observateurs, depuis O.-F. Müller jusqu'à Stein, chez certaines formes de Stentor, leur a paru assez caractéristique pour motiver l'épithète de *niger* qu'ils leur ont unanimement attribuée. La réunion chez un même individu de caractères qui sont à la fois ceux des *St. igneus* et *niger* ne laisse donc pas que d'être assez embarrassante. Ajoutons qu'on ne peut tirer aucun caractère différentiel de la forme du noyau, qui dans les deux espèces se présente sous celle d'une petite masse simple et sphérique. Mais, pensant qu'il faut attacher plus d'importance aux caractères morphologiques généraux (qui dans nos exemplaires se rapprochaient davantage de ceux du *St. igneus*) qu'à ceux résultant de simples produits de dépôt du plasma, j'ai cru devoir rapporter notre espèce au *St. igneus*.

Plus intéressantes que cette question systématique sont les expériences de mérotomie que nous avons réalisées chez nos animalcules. En raison de leur noyau simple et ramassé, il était plus facile que chez leurs congénères *cæruleus* et *polymorphus*, à long noyau moniliforme, d'en séparer des fragments uniquement formés par le plasma, sans aucun vestige de substance nucléaire. La forme trapue du corps permet de faire les sections également bien dans tous les sens, et la fermeté du plasma,

plus considérable que dans les deux précédentes espèces, l'expose beaucoup moins que chez celles-ci à s'écouler par la plaie produite par la section et à se détruire par imbibition aqueuse. Pour la même raison, des fragments même très petits, formés de simples boules de plasma, de $0^{mm},08$ à $0^{mm},12$, ont pu vivre 3 ou 4 jours avant de se détruire par endosmose. Les mérozoïtes plus ou moins volumineux, contenant le noyau, et formés par une portion quelconque de l'animalcule primitif, se sont complètement régénérés, quoique avec un peu plus de lenteur que chez les *St. cæruleus* et *polymorphus*. Le péristome et les parties adjacentes du corps, la vésicule contractile, ne mettaient généralement pas plus de temps que chez ces deux dernières espèces pour se reconstituer d'une manière parfaite, c'est-à-dire 24 à 36 heures ; mais les irrégularités produites par la section dans la forme extérieure du corps, telles que les saillies et les troncatures qui s'observent fréquemment dans la région sectionnée, exigeaient un temps plus long pour disparaître entièrement. Quelques exemples permettront de mieux apprécier les modifications que subissent les mérozoïtes avant de récupérer leur type primitif.

Le 15 octobre (pl. I, *fig.* 26), toute la partie antérieure convexe du péristome avec la portion adjacente de la zone adorale *a* fut enlevée sur un Stentor, par une section, à 2 heures 1/2 du soir. Le 16, la partie coupée ne s'est pas encore reproduite, et le corps est toujours largement tronqué en avant b^1, b^2. Le 17, au matin, le péristome est entièrement reconstitué, mais sous l'influence du travail de régénération le corps a pris une forme irrégulière : il présente dans toute l'étendue de son bord droit un large appendice triangulaire b^3, qui ne commence à disparaître que le lendemain, b^4, et dont il ne subsiste plus qu'une très légère trace le 18, b^5. Les jours suivants, jusqu'au 26, où l'animal a cessé d'être observé, il avait pris un aspect parfaitement normal. Cette lenteur dans le retour à la forme spécifique ne doit pas être attribuée à la basse température, car, pendant toute la durée de l'observation, le thermomètre s'est sensiblement maintenu à 17° centigrades.

Sur un second Stentor (*fig.* 27, I) le tiers postérieur *b* du corps est retranché par une section transversale, légè-

rement oblique d'avant en arrière et de gauche à droite, le 12 octobre, à 3 heures 1/2 du soir. Le lendemain matin, quoiqu'il n'y eût aucun organe nouveau à reproduire, et que l'animal n'eût à régénérer que sa partie postérieure, celle-ci était encore largement tronquée et étirée latéralement, en deux courtes pointes, a^1, qui disparaissaient par intervalles quand le corps s'élargissait, a^2. Ce ne fut que le surlendemain de la section que cette partie postérieure prit une forme régulière, et que l'animal apparut comme un petit Stentor bien constitué, a^3.

Après avoir décrit les modifications que subissent les mérozoïtes nucléés pour revenir à leur forme normale, voyons maintenant ce que deviennent les mérozoïtes non nucléés. Ceux-ci ne font point exception à la règle, constatée chez les autres Ciliés, que la vie ne saurait se prolonger longtemps en l'absence du noyau. Revenons à notre exemple de la figure 26, et considérons le petit fragment *a* formé par la partie antérieure du péristome isolé par section du reste du corps. Aussitôt après sa mise en liberté, ce petit fragment s'est enroulé sur lui-même et a pris une forme allongée, a^1. Peu de temps après apparut dans son intérieur une grosse vacuole aqueuse, et, quelques heures plus tard, il s'est transformé en un corps globuleux a^2, large de $0^{mm},12$, présentant à sa surface une rangée en demi-cercle de gros cils vibratiles formés par la portion de la zone adorale primitive retranchée avec le fragment de péristome. L'agitation puissante de cette rangée ciliaire étant en disproportion avec le petit volume du fragment, celui-ci est entraîné dans un mouvement violent qui le fait tourbillonner dans toutes les parties du liquide, et qui ne se ralentit que lorsque des signes manifestes de dégénérescence commencent à se montrer dans la petite masse de plasma, le surlendemain de la section. Le mouvement ciliaire très ralenti et incapable dès lors de mettre le corps en mouvement s'éteignit peu à peu avec le reste de vie du petit mérozoïte.

Le fragment sans noyau, formé par la partie postérieure, *b*, du Stentor (*fig.* 27), dont il a été question plus haut, a pris, aussitôt après la section, une forme irrégulière, caractérisée surtout par l'allongement en une pointe recourbée tantôt en avant, tantôt en arrière, de son extré-

mité postérieure b^1 — b^3. Il a vécu 2 jours en présentant les altérations ordinaires des fragments sans noyau.

Rapportons enfin encore nos observations concernant le Stentor représenté par la figure 25. Une section transversale, faite immédiatement en arrière du péristome et de la bouche, l'a divisé en deux fragments : l'un antérieur, sans noyau, contenant les parties précitées et ayant la forme d'un corps discoïde, *a*, a^1, a^2 ; l'autre postérieur, renfermant le noyau et de forme conique, *b*, b^1. Ce dernier fragment s'étant spontanément énucléé lui-même à travers la plaie, b^2, on eut ainsi d'un même individu primitif deux mérozoïtes sans noyau, qu'on observa parallèlement dans le même liquide. La section qui leur avait donné naissance était pratiquée le 15 octobre, à 3 heures 20 minutes du soir ; le 16, à 9 heures 1/2 du soir, ils étaient encore bien vivants et nageaient activement dans le liquide : *a*, roulant, autour de son bord arrondi, le péristome dirigé en avant ; *b*, avec sa partie antérieure également tournée en avant, se contractant et s'étendant alternativement comme les individus normaux. Les deux fragments se mouvaient par conséquent dans le sens de leur orientation naturelle, comme nous l'avons constaté aussi pour les mérozoïtes sans noyau des autres espèces de Ciliés étudiées antérieurement. Le 17, à 9 heures du soir, *a* a pris une forme globuleuse et est devenu immobile, mais les cils du péristome continuent encore à s'agiter sans pouvoir mettre le corps en mouvement ; le lendemain matin, même état ; la mort survient dans la journée ; *b*, qui était également mourant la veille au soir, est trouvé mort et décomposé le 18. Les deux mérozoïtes avaient donc vécu près de 3 jours, mais ni l'un ni l'autre ne présentaient la moindre trace de régénération. On a pu enfin faire cette remarque que les cellules de *Zoochlorella* qu'ils renfermaient avaient conservé leur aspect frais et vert jusqu'au moment de la mort des deux mérozoïtes. Devenues libres par la diffluence de ceux-ci, et laissées en place dans le liquide de la préparation, qui fut fréquemment renouvelé, ces cellules ont présenté la même apparence de fraîcheur pendant une quinzaine de jours encore, mais ne montrèrent aucune tendance à se multiplier jusqu'au moment où elles cessèrent d'être observées.

Dileptus Anser

Ce Cilié, de la famille des *Trachelina* de Stein et de la sous-famille des *Amphileptina* de Bütschli, a été fort bien étudié dans ces derniers temps par Wrzesniowsky (1) et par Bütschli (2), et plus récemment par Schewiakoff (3), ce qui me dispense de le décrire à nouveau ici (4). Je parlerai seulement du noyau, au sujet duquel les auteurs ne sont pas d'accord. En effet, Claparède et Lachmann le décrivent comme un cordon recourbé en S, tandis que Ehrenberg, Stein, Stokes lui assignent la forme d'un long cordon moniliforme, et que, d'un autre côté, Wrzesniowsky dit n'avoir pas réussi à démontrer la présence d'un noyau chez cette espèce. Dans mon précédent Mémoire, j'ai déjà indiqué que j'avais trouvé le noyau du Dilepte formé d'une multitude de petits fragments disséminés dans toutes les parties du corps et réunis en un système unique par de minces filaments formés par la membrane d'enveloppe. C'est, en un mot, le même type de noyau que j'ai décrit, il y a longtemps, chez l'*Urostyla grandis*, et qui existe aussi chez quelques autres rares espèces : chez l'*Urostyla intermedia* Bergh (5), chez l'*Holosticha Scutellum* Gruber (6). C'est une sorte de noyau diffus,

---

(1) Wrzesniowsky, Ueber Infusorien aus der Umgebung von Warschau. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, t. XX, 1870, p. 504.

(2) Bütschli, *Protozoa*, *passim*, pl. LXIX, *fig.* 4, *a-g*.

(3) Schewiakoff, Beiträge zur Kenntniss der holotrichen Ciliaten. *Bibliotheca zoologica*, n° 5, 1889.

(4) Cette espèce est la même dont il a été question dans une note de mon premier Mémoire (*l. c.*, p. 66) sous le nom d'*Amphileptus gigas*, qui lui avait été donné par Claparède et Lachmann. J'adopte ici la dénomination de Dujardin, qui lui revient par droit de priorité, et qu'ont employée aussi Stein, Bütschli et d'autres auteurs.

(5) Bergh, Recherches sur les noyaux de l'*Urostyla grandis* et de l'*Urostyla intermedia*. *Archives de Biologie* de Ed. Van Beneden et Ch. Van Bambeke, t. IX, 1889, p. 497.

(6) A. Gruber, Ueber Kern und Kerntheilung bei den Protozoen. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, t. XL, 1884, p. 121. — Weitere Beobachtungen an vielkernigen Infusorien. *Berichte der naturforsch. Ges. zu Freiburg i B.*, t. III, 1887, p. 57. — A la vérité, Gruber décrit cette espèce comme un type à noyaux multiples indépendants les uns des autres, ce qui ne l'empêche pas d'admettre la fusion de ces

dont la substance est réduite en particules très petites à l'intérieur d'un tube membraneux excessivement mince, presque imperceptible, et qui décrit d'innombrables méandres dans toutes les parties du corps (1). On conçoit qu'avec un noyau ainsi constitué il soit à peu près impossible d'obtenir par mérotomie des fragments entièrement dépourvus de substance nucléaire. Aussi la régénération de ces fragments, si petits qu'ils puissent être, est-elle toujours assurée, puisqu'ils contiennent presque infailliblement une parcelle au moins de cette substance. La reconstitution des fragments en individus complets est surtout remarquable par l'extrême rapidité avec laquelle elle a lieu. Chez un exemplaire de Dilepte, coupé transversalement en quatre fragments, dont chacun représentait à peu près le quart de l'individu entier, j'ai trouvé tous les fragments entièrement régénérés après moins de 4 heures. La taille des individus ainsi reconstitués était naturellement restée très petite, mais chacun présentait nettement le prolongement antérieur, en forme de long cou, du type spécifique, et à la face ventrale on voyait distinctivement les deux rangées longitudinales de cils en crinière qui se réunissent en arrière de la bouche. Une rangée de vésicules contractiles s'était aussi formée le long du bord dorsal du corps, que terminait une sorte de queue en pointe obtuse. Tous ces caractères sont ceux des individus normaux. Les fragments ainsi régénérés peuvent vivre plusieurs semaines dans une goutte d'eau sur le porte-objet conservé dans la chambre humide, comme font les exemplaires normaux du *Dileptus Anser*.

---

noyaux entre eux pendant la division. Les micronucléus, qui sont également nombreux, se fusionneraient eux-mêmes en une masse commune à ce moment. Ces faits, trop contraires à ce que l'on observe chez d'autres espèces, autorisent à douter de l'exactitude des observations de Gruber, ainsi que le font Bergh (*loc. cit.*) et Bütschli (*Protozoa*, p. 1504).

(1) J'ai retrouvé depuis d'anciennes figures du *Dileptus Anser*, datant de 1859 et 1862, où le noyau est représenté comme un long chapelet de grains arrondis ou elliptiques, au nombre de 22 chez un exemplaire, et de 23 chez un autre. Chez le premier, il était accompagné de 5 micronucléus globuleux, espacés sur son trajet. On doit, d'après cela, conclure que le noyau n'est pas toujours construit sur le même type chez le Dilepte, à moins d'admettre que la forme rubanée ou en chapelet se rapporte à des noyaux contractés chez des individus en voie de fissiparité. Bütschli a observé aussi les deux types de noyau du Dilepte (*Protozoa*, p. 1504), et, plus récemment, Schewiakoff (*loc. cit.*) a fait une constatation analogue.

Loxodes rostrum

J'ai donné ailleurs (1) une description assez complète de cette intéressante espèce de Cilié, que sa grande taille, sa forme aplatie, lamellaire, rendent très favorable à des expériences de mérotomie. Un autre avantage est la facilité avec laquelle la plaie produite par la section se ferme, d'où il résulte que les fragments ne meurent que rarement du fait même de l'opération, par diffluence. Mais ces avantages sont diminués par la difficulté qu'on éprouve à les conserver en vie pendant un temps assez long pour que la régénération, qui est toujours lente à se faire d'une manière complète, puisse avoir lieu. J'indiquerai plus loin à quelle cause il faut attribuer la destruction des fragments et par quels moyens on peut tenter d'y remédier.

Le *Loxodes rostrum*, quoique appartenant, comme le *Dileptus Anser*, à la famille des Trachéliens, diffère beaucoup de celui-ci par la constitution de son système nucléaire. Nous avons vu que, malgré le grand nombre de petites masses nucléaires que renferme le Dilepte (2), toutes ces masses ne forment, à proprement parler, qu'un noyau unique dont la substance est divisée en une multitude de petits fragments reliés les uns aux autres par des filaments constitués par la membrane d'enveloppe du noyau. Chez le Loxode, au contraire, les petites masses nucléaires (qui peuvent s'élever jusqu'au nombre de 20 à 25) que renferme cette espèce constituent autant de noyaux indépendants, car chacune d'elles est entièrement isolée des autres. Le Loxode appartient, par conséquent, à la catégorie encore peu nombreuse des Ciliés multinucléés, dont on connaît depuis longtemps un type remarquable dans l'Opaline de la Grenouille. Par suite de la multiplicité des noyaux

---

(1) Balbiani, Etude sur le Loxode. *Annales de Micrographie*, t. II, 1890, p. 401.

(2) Au moins chez la plupart des exemplaires de cette espèce, car chez quelques-uns le noyau peut affecter la forme d'un cordon cylindrique ou moniliforme, comme nous l'avons vu plus haut.

et de leur dispersion dans le plasma, il est difficile d'obtenir par division artificielle des fragments qui ne contiennent pas un au moins de ces noyaux. On ne peut pas, non plus, chez le Loxode tourner la difficulté en opérant sur des individus en voie de fissiparité, comme nous avons vu qu'on pouvait le faire chez les Stentors, afin de profiter du stade où le noyau est concentré sous forme d'une masse unique au centre du corps, ce qui permet de séparer de celui-ci une portion plus ou moins considérable prise en dehors du noyau et n'en offrant aucune parcelle. Les noyaux multiples du Loxode restant à l'état isolé à tous les stades de la fissiparité, la difficulté de soustraire du corps un fragment sans noyau reste la même que chez les individus ordinaires. On sait d'ailleurs que c'est cette fusion ou ce défaut de fusion pendant la reproduction fissipare qui, chez les espèces à masses nucléaires multiples, permet de reconnaître, lorsque par l'observation directe on ne parvient pas à trancher la question, si l'on a affaire à une espèce à noyau simplement fragmenté ou à une espèce réellement multinucléée.

En raison de la difficulté signalée d'obtenir chez le Loxode des fragments sans noyau, la régénération des mérozoïtes est par conséquent la règle. Mais ce Cilié fournissait une occasion précieuse de reconnaître si les noyaux multiples que contiennent souvent les fragments exerçaient une influence sur la marche de la régénération. Dans ses essais de division artificielle, Nussbaum (1) s'était précisément adressé tout d'abord à une espèce multinucléée, l'Opaline de la Grenouille, qui renferme une ou deux centaines de petits noyaux disséminés dans toutes les parties du corps ; mais ses essais avaient échoué par suite de la difficulté de conserver vivants les fragments de cette espèce parasite. Bien que le Loxode soit une espèce à vie libre, il faut prendre certaines précautions pour empêcher la destruction rapide des fragments qu'on en obtient par division artificielle. Dans mes premiers essais, je ne réussissais

(1) Nussbaum, Ueber die Theilbarkeit der lebendigen Materie. I. Die spontane und künstliche Theilung der Infusorien *Archiv f. mikrosk. Anat.*, t. XXVI, p. 485, 1886.

que rarement à voir leur survie se prolonger au-delà de 3 à 4 jours, dans la chambre humide, et très souvent ils périssaient déjà au bout de quelques heures, alors que d'autres Ciliés continuaient à vivre parfaitement à côté d'eux.

J'avais attribué d'abord leur mort à l'asphyxie, pensant qu'ils étaient plus sensibles que leurs congénères à la diminution de la quantité d'air dissous, mais je reconnus plus tard que leur destruction devait être attribuée à une autre cause. Le corps du Loxode est en effet aplati, presque lamellaire, et revêtu d'une cuticule très mince. Grâce à sa forme aplatie, il peut s'avancer jusqu'à l'extrême limite de la goutte d'eau étalée sur le porte-objet ; n'étant plus recouvert alors que par une mince couche de liquide, il cesse de flotter et s'aplatit contre le porte-objet par attraction capillaire. La cuticule, fortement distendue et peu résistante, crève et laisse échapper le plasma, qui se détruit au contact de l'eau. Pour obvier à cet accident, il faut empêcher que la goutte d'eau ne s'étale en une couche mince sur ses bords, ce qu'on réalise facilement en enduisant la partie du porte-objet sur laquelle la goutte doit être déposée d'une couche très mince d'un corps gras parfaitement neutre, de vaseline par exemple. L'eau, empêchée de mouiller le verre, prend la forme d'un ménisque convexe, dont les bords présentent partout une épaisseur suffisante pour que les animalcules ne soient pas exposés à l'accident dont je parle. J'ai pu, dans ces conditions, conserver vivants pendant plus de 15 jours, dans la chambre humide, des Loxodes ou les fragments que j'en avais formés par division artificielle. Il n'est pas inutile de signaler ces petits détails de l'expérimentation, car, si je n'avais pas reconnu la cause réelle de la mort de mes sujets en expérience, je l'aurais attribuée à l'opération de la mérotomie, tandis qu'elle est le résultat de circonstances toutes fortuites tenant à la forme même de l'espèce sur laquelle j'expérimentais.

La section du corps en deux ou plusieurs fragments n'est pas suivie chez le Loxode de la période de vive excitation que l'on observe chez d'autres Ciliés, le *Cyrtostomum leucas* par exemple (1). Les différents fragments

(1) Voir les expériences de mérotomie sur cette espèce dans mon premier Mémoire in : *Recueil zoologique suisse*, t. V, 1889, p. 23.

s'éloignent les uns des autres sans plus presser leur allure que ne le fait l'animal entier lorsqu'on le touche avec la pointe d'une aiguille par exemple. Contrairement encore à ce qu'on observe chez le Cyrtostome, où le mérozoïte est comme désorienté pendant la période qui suit la section, et se dirige tantôt en avant, tantôt en arrière, celui du Loxode n'éprouve aucune hésitation à reprendre immédiatement son orientation normale, et se meut dans le sens où il eût été entraîné sur l'animal complet (1). S'il est permis d'employer ici cette expression, on peut dire que le Loxode a un tempérament plus apathique que les autres Ciliés dont nous nous sommes occupés antérieurement. Cette lenteur plus grande se manifeste aussi dans les phénomènes de régénération. La fermeture de la plaie produite par la section n'a pas lieu par un resserrement actif de ses bords ; les deux lèvres restent parallèles et ne font que se rapprocher en s'accolant. Ce n'est qu'au bout d'un temps assez long, 10 à 12 heures, que les angles de la troncature s'émoussent, et que le mérozoïte tend à s'arrondir à sa partie postérieure.

Si la section a retranché le rostre, il faut au moins 2 jours pour que le mérozoïte commence à se recourber à sa partie antérieure, premier indice de la régénération du rostre ; celui-ci, d'abord fort court, ne prend sa forme et ses dimensions définitives qu'au bout de 2 autres jours. Le péristome nouveau apparaît à la base du rostre sous la forme d'une ligne brunâtre, légèrement recourbée, qui représente le bord droit de la fossette péristomienne. L'appareil buccal tout entier et l'œsophage ne sont complètement reconstitués que le quatrième jour (2). Les vésicules de Müller se montrent d'abord au nombre de une ou deux au bord convexe du rostre, vers le moment où celui-ci commence à se former ;

---

(1) Il ne faut d'ailleurs pas perdre de vue que le Loxode est doué de la propriété que Perty a désignée sous le nom de *diastrophie*, et qui consiste à se mouvoir en dirigeant en avant tantôt l'extrémité antérieure, tantôt l'extrémité postérieure. Cette propriété, que présentent à un degré plus ou moins marqué beaucoup d'autres Ciliés, s'observe aussi sur leurs fragments formés par division artificielle.

(2) Je renvoie pour la description de ces parties à mon étude sur le Loxode, in : *Annales de Micrographie*, t. II, 1890.

leur nombre augmente ensuite progressivement dans cette région, et, en se rapprochant les unes des autres, elles viennent former avec les vésicules restées dans le mérozoïte la rangée longitudinale de ces petits corps qu'on observe chez les individus normaux (1). Il faut donc au moins 4 jours pour qu'on puisse considérer la régénération comme complète chez le Loxode. C'est la plus longue durée que ce phénomène m'ait présentée chez les Ciliés. Elle contraste surtout d'une façon remarquable avec la rapidité qu'il présente chez le *Dileptus Anser*, où, ainsi que nous l'avons vu, les fragments obtenus par division artificielle redeviennent en moins de 5 heures des individus complets. Cette différence est d'autant plus frappante, que les deux espèces appartiennent à la même famille naturelle, celle des Trachéliens, mais elles diffèrent profondément, comme nous l'avons déjà fait ressortir, par la constitution de leur appareil nucléaire, puisque le Dilepte, malgré son noyau très morcelé, est en réalité une espèce uninucléée, tandis que le Loxode est un type des mieux caractérisés de Cilié multinucléé.

Cette différence de constitution de l'appareil nucléaire chez les deux espèces exerce-t-elle une influence sur le temps nécessaire à leur régénération ? Je ne fais que poser la question, qui ne pourra être résolue que lorsqu'on aura expérimenté comparativement sur un plus grand nombre de types appartenant aux deux catégories de Ciliés. Malheureusement, nous ne connaissons encore qu'un très petit nombre d'espèces à noyaux multiples, ce qui fait présumer que la solution de la question se fera attendre encore assez longtemps. Gruber, qui a fait des expériences de division artificielle chez des Loxodes, et qui a vu tous les fragments périr sans se régénérer, s'étonne de ce résultat, eu égard au succès de ses expériences faites sur d'autres Protozoaires multinucléés, *Myxastrum*, *Pelomyxa*, *Actinosphaerium*. Les insuccès de Gruber sur le Loxode ne tiennent évidemment qu'à ce qu'il n'a pas su mettre les fragments obtenus par

(1) Voir mon étude précitée pour la signification que j'attribue aux vésicules de Müller.

division à l'abri des causes de destruction dont nous avons parlé plus haut.

Pour terminer l'exposé de mes expériences concernant le *Loxodes rostrum*, je veux rapporter encore les deux observations dont les diverses phases sont représentées dans les figures 31 et 32. Dans la première (*fig.* 31, I) on voit que, par une section incomplète, le fragment formé par la partie postérieure du corps ne s'est pas entièrement séparé du reste, mais demeure attaché au côté gauche de l'animal sous forme d'un lambeau irrégulier, x, que celui-ci traîne à sa suite en nageant. Ce lambeau de substance renferme un ou deux des noyaux multiples du Loxode, ainsi que quelques *ingesta* formés par des globules verts. Par suite des mouvements de rotation autour de son axe que la partie principale exécute en nageant, le pédicule qui unit le lambeau à cette partie a subi un mouvement de torsion, qui, dans le courant de la journée, finit par séparer complètement les deux parties. Le lendemain matin, je trouve la partie principale en train de reproduire son extrémité postérieure sectionnée; mais cette régénération n'est achevée que le surlendemain. Quant à la petite portion, elle a déjà pris, dès le lendemain de sa séparation d'avec la grande, la forme vague d'un petit Loxode ; elle a l'aspect d'une petite lamelle losangique, longue de $0^{mm},12$, dont l'un des angles allongé en saillie mousse représente le rudiment de la partie antérieure du corps qui forme le rostre, x^1. Tous les ingesta ont été expulsés, sauf un seul, qui est lui-même bientôt rejeté, x^2 ; on distingue aussi près de la partie antérieure du bord opposé au rostre deux vésicules de Müller avec leur globule réfringent central, et les fines stries granuleuses de l'entoplasme commencent à se recourber parallèlement au rostre comme chez les individus normaux. Dans les 2 jours suivants, la forme typique d'un petit Loxode s'accuse graduellement davantage, x^4, x^5; les deux bords latéraux du corps se sont infléchis vers la face dorsale (1) comme chez ces derniers ; les vésicules de Müller sont au nombre de trois, disposées

(1) Voir dans mon Mémoire cité sur le Loxode comment j'ai cru devoir orienter le corps chez ce Cilié.

en une rangée parallèle au bord droit du corps ; enfin deux petits noyaux clairs, agents responsables de la régénération du fragment, brillent au milieu des granulations foncées du plasma. Mais il n'y a encore aucune trace de l'appareil buccal si caractéristique du genre Loxode, aucun vestige du voile membraneux contractile qui ouvre ou ferme l'orifice buccal ni de ses deux bordures solides brunes, en arc de cercle, prolongées postérieurement en une baguette qui renforce la paroi de l'œsophage. Malheureusement, les conditions biologiques du liquide où vit le petit animal commençant à devenir défavorables, celui-ci disparaît avec les autres animalcules que contient la culture.

La seconde observation est plus intéressante en ce qu'elle montre la régénération presque parfaite d'un petit Loxode aux dépens d'un prolongement qui s'était produit spontanément sur un fragment séparé par section. Un Loxode de grande taille (*fig.* 32, I) est divisé transversalement en trois segments, un antérieur *a*, un moyen *m*, et un postérieur *p*. Ce dernier se détruisit presque immédiatement après la section. Le fragment antérieur *a* s'est régénéré en un Loxode parfaitement normal 3 jours après l'opération, en présentant, a^1, a^2, les phases ordinaires de cette régénération. Notons seulement la multiplication des noyaux, qui, d'abord au nombre de trois, se sont multipliés jusqu'à une douzaine chez l'individu complet. C'est le mérozoïte médian *m* qui présente les faits les plus intéressants.

Au moment de sa formation, le 11 février à 2 heures du soir, il présentait la forme d'un trapézoïde dont le côté antérieur était rectiligne et exactement transversal à l'axe de l'animalcule primitif (*fig.* 32, *m*). Le même jour, à 10 heures du soir, on apercevait, près du bord antérieur de sa face ventrale, m^1, un prolongement conique assez long, *x*, dirigé obliquement vers le plus long côté du trapèze, correspondant au bord droit du corps, m^1. Le lendemain matin, le mérozoïte *m* s'était régénéré en un petit Loxode, qui eût présenté un aspect complètement normal sans le prolongement conique de la veille, qui avait persisté, et s'élevait alors distinctement de la partie antérieure du bord gauche du corps, infléchi vers la face ventrale comme chez les individus normaux, m^2. Une belle vési-

cule de Müller, avec son globule réfringent, était alors visible au sommet du prolongement, et un peu en arrière se voyaient deux noyaux clairs *n*, *n*; d'autres noyaux en assez grand nombre étaient placés dans la partie centrale du mérozoïte, et expliquaient la rapide régénération de celui-ci. La partie antérieure formant le rostre présentait une forme normale, et la présence vers son bord convexe de deux minces lignes courbes brunes indiquait le commencement de la formation de l'appareil buccal; mais il n'y avait encore aucune trace de la rangée des vésicules de Müller, qui, chez les individus normaux, est placée vers le bord convexe du rostre. Le soir du même jour, l'aspect du mérozoïte *m* était resté le même, sauf qu'il s'était beaucoup élargi dans sa partie moyenne, m^3. Le 14 au matin, le prolongement *x* tendait évidemment à s'individualiser comme un être indépendant : il avait augmenté de volume, et affectait la forme d'un corps ovalaire qu'un pédicule assez gros fixait sur l'individu principal, m^4. On voyait encore dans son intérieur les deux noyaux déjà décrits, et une vésicule de Müller nouvelle se montrait vers l'insertion du pédicule. On pouvait constater de plus, par la présence de corps étrangers *i* dans l'intérieur du plasma, que la bouche nouvelle de l'individu principal était déjà assez bien formée pour permettre l'ingestion des aliments.

Grâce à son pédicule d'insertion sur ce dernier, le petit individu *x* peut se diriger dans tous les sens, se placer en avant ou en arrière du rostre, m^5, affecter, en un mot, toutes les positions par rapport au sujet plus grand en se tordant sur son pédicule, m^4, m^5, m^6. Peu à peu ce dernier s'amincit et vient occuper une position plus reculée sur le bord gauche du corps; le pédicule de plus en plus aminci et contourné en spirale finit par se rompre, et le petit individu devient libre à la manière d'un bourgeon qui se détache du corps maternel. Il présente alors nettement la forme d'un petit Loxode un peu trapu; il contient deux noyaux clairs et trois vésicules de Müller disposées sur une ligne parallèle au bord convexe du corps, mais ne montre aucune trace d'un appareil buccal, x^1. Une de ses faces est parcourue par de fines striées longitudinales ciliées, et doit être considérée comme la face ventrale;

l'autre, dépourvue de striées ciliées, correspond à la face dorsale. La natation est lente et posée, accompagnée de temps en temps d'une rotation autour de l'axe du corps ou d'un renversement de l'extrémité qui se meut en avant (diastrophie de Perty), comme chez les individus ordinaires. La longueur, $0^{mm},116$, est beaucoup au-dessous de celle des plus petits individus connus de l'espèce ($0^{mm},16$ à $0^{mm},18$).

Ce petit individu a pu être observé jusqu'au 14 au soir, mais n'a pu être retrouvé le lendemain matin, ce qui me fait supposer qu'il s'était détruit pendant la nuit. Sur ces entrefaites, l'individu dont il s'était détaché, m^6, avait pris la forme d'un Loxode parfait contenant toujours de nombreux noyaux, mais une vésicule de MÜLLER unique vers la partie antérieure, m^7. Il vécut encore 2 jours dans de mauvaises conditions de nutrition, qui eurent pour conséquence un rapetissement de la taille, m^8, la déformation du corps, l'effacement presque complet des lignes brunes de la bouche; le plasma lui-même s'était rempli d'un abondant dépôt de granulations excrétoires foncées, et la plupart des noyaux avaient disparu par résorption, car le traitement par l'acide osmique m^9 n'en put mettre que trois en évidence; en revanche, trois vésicules de MÜLLER devinrent visibles après l'action du réactif, à la place de la vésicule unique que l'on voyait quelques jours auparavant.

En résumé, l'observation que nous venons de relater présente ce fait intéressant de la formation d'un petit Loxode parfaitement reconnaissable, sinon pourvu de toutes ses parties constituantes, aux dépens d'une masse de plasma nucléée qui s'était produite à la manière d'un bourgeon adventice sur un fragment séparé du corps d'un individu normal, ce fragment étant redevenu lui-même un Loxode complet. Cette masse plasmique bourgeonnante, qui n'offrait aucun rapport d'orientation visible avec l'animal primitif, ne s'en est pas moins différenciée en un être dont les axes et les pôles sont dirigés semblablement à ceux de l'individu dont il provient. Chaque parcelle de plasma, même la plus petite, qu'elle ait ou non la faculté de se régénérer, puisque celle-ci ne dépend que de la pré-

sence ou de l'absence d'un noyau, doit par conséquent se comporter à cet égard comme le petit bourgeon dont il vient d'être question, c'est-à dire présenter la même orientation que l'organisme total dont elle fait partie, et se diriger dans le même sens que ce dernier, lorsque ses moyens de locomotion le lui permettent.

Fabrea salina

Si la grande taille de ce Cilié hétérotriche ne le rendait pas déjà très favorable à des expériences de mérotomie, il mériterait encore de servir à de semblables essais en raison des conditions particulières de son genre de vie, très différent de celui des espèces que nous avons étudiées jusqu'ici. La *Fabrea* a été effectivement découverte récemment par M. Henneguy, dans les marais salants du Croisic, dont l'eau a une salure d'environ 0,03 plus forte que l'eau de mer ordinaire (1). Il était, par conséquent, intéressant d'examiner si la faculté de régénération était aussi développée chez les espèces vivant dans des conditions aussi insolites que chez leurs congénères d'eau douce.

Dans son Mémoire sur la *Fabrea salina*, M. Henneguy (2) a donné une description très complète de ce Cilié ; je puis, par conséquent, me dispenser de le décrire à nouveau ici. Je signalerai seulement comme des particularités intéressantes pour nos études (*fig.* 33) : 1° son large péristome, coupé en bec de flûte, occupant presque toute la longueur et la largeur de la moitié antérieure du corps, longé à son bord gauche par la zone adorale et se terminant en arrière par la spire buccale *b* ; 2° son noyau *n* en forme de cordon sinueux, assez peu développé pour n'occuper qu'une portion restreinte de l'intérieur du corps, ce qui permet de séparer par section des fragments assez volumineux de

(1) La densité de l'eau où vivait la *Fabrea* était de 1,035, celle de l'eau de mer étant de 1,024.

(2) L.-F. Henneguy, Sur un Infusoire hétérotriche, *Fabrea salina*. *Annales de micrographie*, t. III, 1890, p. 118.

l'animal ne contenant aucune portion du noyau ; 3° l'existence d'une tache pigmentaire foncée, allongée et bien circonscrite, *t*, située au bord gauche de sa partie antérieure, sur la ligne d'implantation des cils de la zone adorale, et représentant probablement l'organe de sensation, un peu plus compliqué, que quelques auteurs ont décrit comme un œil chez d'autres Ciliés ; 4° enfin, l'absence d'une vésicule contractile, caractère propre à un grand nombre de Ciliés marins (1).

La première observation que j'ai faite chez la *Fabrea salina* a présenté des conditions assez intéressantes pour mériter d'être rapportée ici. Un exemplaire fut déposé dans une goutte d'eau sur un porte-objet. Afin d'immobiliser l'animal, le porte-objet fut placé, la goutte en bas, sur le goulot d'un flacon contenant une petite quantité d'éther. L'Infusoire fut promptement anesthésié et devint immobile. En enlevant le porte-objet, il se produisit dans la goutte d'eau, par évaporation de l'éther dissous, des courants tourbillonnants violents qui mutilèrent l'animal en lui enlevant toute la partie antérieure en forme de prolongement jusqu'à la spire buccale. Il reprit bientôt, ainsi mutilé, ses mouvements, et continua à vivre dans la même goutte d'eau. Le lendemain soir seulement, la partie antérieure tronquée commença à s'allonger en une sorte de bec obtus, un peu recourbé sur le bord droit ; ce bec s'allongea graduellement les 2 jours suivants, et ce fut le troisième jour seulement que la tache pigmentaire, que nous avons signalée au bord gauche de la partie antérieure, devint bien visible par sa coloration noire intense.

Parmi un grand nombre d'autres observations, faites sur ce Cilié, je ne rapporterai que les deux suivantes, dont l'une concerne un mérozoïte qui avait conservé une portion du noyau de l'individu primitif, et l'autre un mérozoïte sans noyau. Le premier (I, *fig*. 35) fut obtenu par une section qui, passant au niveau où la zone adorale se recourbe pour pénétrer dans l'entonnoir buccal, avait supprimé toute la partie antérieure du corps, *a*. Le cordon nucléaire, qui présentait une courbure sur le trajet de la sec-

(1) Voir pour les autres détails l'explication de la figure 33.

tion, fut partagé par celle-ci en deux tronçons inégaux qui restèrent d'abord l'un et l'autre dans la partie postérieure épaisse du corps *b*, puis, presque aussitôt après, le plus court des deux tronçons s'échappa par la plaie b^1, tandis que l'autre resta en place après la fermeture de celle-ci, opérée par le rapprochement dorso-ventral de ses deux bords. Ce ne fut que 2 jours après l'opération que la partie retranchée commença à se régénérer ; il se produisit d'abord, en avant de la surface coupée, un péristome fort court, dont le bord gauche présentait distinctement une petite tache ovalaire noirâtre, premier vestige de la tache pigmentaire foncée qui existe normalement en ce point, b^2. Le lendemain, ce péristome rudimentaire s'était allongé, ainsi que la tache placée sur son bord gauche ; la zone adorale s'était aussi entièrement recomplétée; et toute cette partie n'eut qu'à s'allonger et s'effiler davantage pour reprendre la forme typique chez les individus normaux, b^3, b^4. Pendant ces transformations extérieures, la portion du noyau primitif restée dans le fragment présentait aussi quelques changements de forme; il s'allongea d'abord en s'amincissant, et s'étendit presque en ligne droite dans l'axe du corps, puis il se raccourcit de nouveau en s'épaississant, et se retira dans la partie postérieure, en offrant l'aspect d'un gros cordon recourbé.

Examinons maintenant les modifications présentées par le mérozoïte sans noyau. Celui-ci était formé par la partie postérieure d'une *Fabrea*, qui, contenant d'abord une partie du noyau intéressé par la section, s'était, presque immédiatement après, énucléée spontanément par la plaie *b*, b^1. Avant de suivre le sort ultérieur de ce fragment, disons un mot seulement du mérozoïte antérieur. Celui-ci (*fig*. 34, *a*) avait emporté la majeure partie du noyau, mais il en perdit un assez long bout qui avait fait hernie à travers la plaie, a^1 ; le reste se retira à l'intérieur du plasma, ce qui permit la régénération du fragment, qui eut lieu 2 jours après, a^2, a^3.

Quant au mérozoïte complètement énucléé (*fig*. 34, *b*, b^1), il se mit aussitôt à tourner rapidement sur lui-même en renversant alternativement le sens de la rotation. Ce mouvement durait encore le lendemain aussi rapide que la

veille et sans aucune intermittence. Aucune trace de régénération ne se remarquait sur le fragment; il avait pris seulement une forme ovoïde, de conique qu'il était, b^2, et le jour suivant il était devenu un petit sphéroïde d'un diamètre de $0^{mm},14$, b^2. L'aspect resta le même jusqu'au septième jour; le plasma était devenu seulement plus foncé, plus granuleux. Les mouvements, devenus moins rapides, mais toujours assez vifs, consistaient en une rotation autour des différents axes du sphéroïde que représentait le corps du mérozoïte. Le huitième jour enfin, j'ai trouvé l'animal mort et réduit à un petit amas de granulations, au milieu desquelles il n'y avait aucune trace d'un noyau, comme on put s'en assurer avec ou même sans le secours des réactifs.

Dans plusieurs autres observations, la survie des fragments sans noyau, formés aux dépens de diverses parties du corps, a varié de 2 à 8, et même, dans un cas, jusqu'à 10 jours. Quelle que fût la forme initiale des fragments, ceux-ci finissaient toujours par prendre celle d'une masse sphéroïde dans les derniers temps de la vie, alors que le plasma présentait les signes d'une dégénérescence plus ou moins avancée, caractérisée par un état granuleux et vacuolaire.

En résumé, malgré son genre de vie dans un milieu fortement salin, la *Fabrea* présente la même aptitude à la régénération des parties perdues que les Ciliés d'eau douce. De même que pour ces derniers, ces parties ne se reforment à nouveau que dans les fragments qui ont conservé le noyau ou une portion du noyau, tandis que les fragments sans noyau ne présentent aucune trace de régénération, mais peuvent vivre une semaine et plus avant de présenter les modifications caractéristiques de l'altération du plasma qui finissent par amener leur mort. Cette survie des fragments sans noyau, en général plus longue que celle que l'on observe chez les espèces d'eau douce, est probablement due à la grande vitalité de la *Fabrea*. En effet, M. Henneguy a observé que ces Ciliés pouvaient vivre plusieurs mois dans une eau parfaitement pure, d'où ont disparu successivement toutes les autres espèces d'animalcules qui primitivement vivaient en compagnie avec eux. A la

même propriété se rattache probablement aussi la faculté qu'ils ont de supporter, sans paraître en souffrir, une augmentation ou une diminution notable du degré de salure du liquide. Cette grande résistance vitale des individus normaux ou de leurs fragments formés par division est-elle propre à l'espèce ou est-elle une faculté générale des Ciliés marins, c'est ce qui ne pourra être décidé que par des observations plus nombreuses faites chez ces dernières espèces.

RÉSUMÉ DES PRINCIPAUX FAITS CONCERNANT LA MÉROTOMIE DE *STENTOR POLYMORPHUS*, *ST. IGNEUS*, *DILEPTUS ANSER*, *LOXODES ROSTRUM* ET *FABREA SALINA*.

1° *Stentor polymorphus* et *St. igneus* se comportent, au point de vue de la mérotomie, d'une façon complètement identique à *St. cæruleus*, précédemment étudié, c'est-à-dire que les fragments contenant un noyau jouissent seuls de la propriété de se régénérer, tandis que les fragments dépourvus de noyau ne se régénèrent pas et se détruisent au bout de peu de jours ;

2° La rencontre d'individus d'aspect parfaitement sain et normal de *St. polymorphus*, mais dont le noyau est entièrement envahi par une production parasitaire (Holosporées), peut s'expliquer soit par la présence d'une très petite quantité de substance nucléaire restée dans le noyau, soit parce que ces individus se trouvent encore dans le délai où la survie est possible sans noyau ;

3° Chez le *Dileptus Anser*, espèce uninucléaire, à noyau diffus, c'est-à-dire dont la substance nucléaire est dispersée sous forme de petites granulations dans toutes les parties du plasma (1), tous les fragments jouissent indistinctement de la faculté de se régénérer, attendu qu'il est presque impossible d'en obtenir qui ne contiennent pas au moins quelques granulations nucléaires. Cette régénération

(1) Au moins dans une certaine variété de l'espèce.

se fait même d'une façon très rapide, et est déjà complètement achevée en 4 heures; les fragments régénérés peuvent vivre plusieurs semaines sur porte-objet, comme font les individus normaux;

4° Cette régénération rapide du *Dileptus* contraste avec la lenteur du phénomène chez le *Loxodes rostrum*, espèce à noyaux multiples, où les fragments ne demandent pas moins de 4 à 5 jours pour se reconstituer en individus complets. Existe-t-il un rapport entre la rapidité de la régénération et l'état uni ou multinucléaire? C'est ce que l'observation ne permet pas encore de décider;

5° Dans le cours de la régénération des fragments du Loxode, il se forme quelquefois spontanément un petit mérozoïte secondaire aux dépens d'une portion du mérozoïte principal contenant un ou plusieurs noyaux, portion qui devient libre après s'être organisée d'une façon plus ou moins complète en un petit Loxode;

6° *Fabrea salina*, Cilié hétérotriche des marais salants, n'offre pas une faculté régénératrice moins prononcée que ses congénères d'eau douce. Les fragments sans le noyau dégénèrent comme chez ces derniers sans se reconstituer, mais présentent en général une survie plus longue que chez ceux-ci (8 à 10 jours), ce qui doit être probablement attribué à la grande vitalité de l'espèce.

(*A suivre.*)

SUR LA PHOPHORESCENCE DES LACS SALÉS DES ENVIRONS D'ODESSA

Par D. ZABOLOTNY (1)

On connaît maintenant plusieurs espèces d'animaux et de végétaux inférieurs luisant d'une lueur phosphorescente. Malgré leurs dimensions très minimes, ces êtres rendent lumineux le milieu où ils se trouvent, comme l'eau, la viande, le bois pourri, le poisson mort.

On distingue actuellement plusieurs espèces de microbes phosphorescents dans l'eau de mer, et c'est là ce qui nous a engagé à rechercher dans l'eau des lacs salés qui se trouvent aux environs d'Odessa les êtres qui étaient cause de la puissante phosphorescence observée pendant le cours de l'été 1889. Ces « limans » se trouvent à 15 kilomètres de la mer dans un terrain salineux qui a été autrefois au fond de la mer. Ils n'ont plus aujourd'hui de communication apparente avec la mer et appartiennent au type des lacs isolés d'eau salée. La densité de l'eau est de 4 pour l'un de ces « limans », nommé le liman de *Kadgi-stey*, et de 5 pour le second, nommé le liman de *Koujalnik*.

Le phénomène de la phosphorescence fait le plus d'effet dans les nuits chaudes d'été, par un vent modéré, quand les crêtes de vagues qui viennent se briser sur les bords s'allument sur toute la surface du liman d'un éclat phosphorescent. Lorsque l'eau est parfaitement calme, le jet d'une pierre dans l'eau ou bien les mouvements d'une personne qui se baigne produisent une recrudescence de lumière.

Si l'on agite l'eau contenue dans un vase, la lueur obtenue est tellement forte qu'elle permet de distinguer des caractères imprimés; si on la laisse dans un récipient découvert, elle conserve pendant longtemps ses propriétés

(1) Travail de l'Institut bactériologique d'Odessa.

phosphorescentes (d'une à deux semaines). Examinée à un faible grossissement elle contenait des *Daphnies* (pas toujours), des *Rotateurs* plus nombreux, et surtout des Infusoires, dont l'un, de couleur brune (de l'ordre des *Cilioflagellés*), se rencontrait très abondamment (au nombre 50-100 dans chaque champ de vision). C'était le principal habitant de l'eau, lui donnant une teinte rouge foncé.

Pour déterminer lequel de ces organismes était la cause de la phosphorescence de l'eau, nous nous proposâmes de les isoler chacun séparément dans de l'eau, ce qui ne présentait pas de difficulté, parce qu'on pouvait distinguer les Daphnies et les Rotateurs à l'œil nu, et qu'on pouvait les séparer aisément dans l'eau habitée par les Infusoires bruns. La lueur phosphorescente ne se manifesta que dans l'eau qui contenait les Infusoires à teinte brune, ce qui nous porte à affirmer que c'était à eux qu'il fallait attribuer la cause de la phosphorescence, d'autant plus que les recherches faites dans le but de trouver d'autres êtres luisants dans l'eau de liman restèrent infructueuses. Les cultures de l'eau du liman dans la gélatine et bouillon ordinaires et salés (que préfèrent les bactéries luisantes) n'ont point produit d'êtres phosphorescents.

Si l'on passait l'eau du liman au travers d'un papier à filtre ordinaire (qui ne retient pas les microbes), le *filtratum* cessait de produire de la phosphorescence, tandis que le sédiment brun qui restait sur le filtre contenant lesdits Infusoires en grand nombre donnait, quand on le remuait, une lueur encore plus intense que l'eau avant sa filtration, et le filtre continuait aussi à luire jusqu'à ce qu'il fût sec.

Le *filtratum* semé dans de la gélatine ne nous montrait que les représentants ordinaires de la flore bactérienne du liman et point de microbes luisants.

De même, les cultures dans l'eau du liman stérilisée n'ont pas produit de phosphorescence.

Nous ne pûmes également constater la symbiose de bactéries (supposées) luisantes avec les Infusoires.

Il est vrai qu'en colorant les préparations desséchées d'après le procédé de double coloration *Roch-Ehrlich*, on distinguait dans tout le corps de l'Infusoire des corpuscules

ronds, d'une forme régulière, que nous prîmes cependant pour des grains de plasma colorés avec plus d'intensité.

Nous ne devons conclure de tout cela que le phénomène de la phosphorescence de l'eau est dû au protoplasme de l'Infusoire à teinte brune, que nous croyons pouvoir classer, après un examen consciencieux, dans la famille des *Péridinées*, genre *Glenodinium*. D'une forme ovale ou arrondie, cet Infusoire possède une membrane ou cuirasse, donnant la réaction du tissu cellulaire, et un noyau au centre du corps. Le protoplasme granuleux contient des chromatophores colorés en brun par un pigment qu'on peut aisément extraire par l'alcool.

Quand le vase où se trouve l'eau du liman est immobile, les Infusoires, ayant évidemment besoin d'oxygène, se réunissent à la surface de l'eau.

On trouve parmi eux des individus doubles, qui, de même que les simples, ont le pouvoir de produire des mouvements très vifs à l'aide de leurs flagella.

Dans l'eau stagnante — laissée pendant quelques jours dans un vase, — et quelquefois dans celle du liman, on rencontre des individus dépourvus de pigment brun ; ils sont d'une teinte rose pâle, avec des mouvements ralentis. Au bout d'un certain temps l'eau cesse de luire. Les Infusoires s'enkystent et descendent au fond de l'eau. On trouve alors des kystes contenant le protoplasme, divisés en deux portions (exactement comme le décrit Stein chez les *Péridinées*). On observe parfois des individus tout nus et pourvus d'un flagellum sortant d'un kyste. D'après l'ensemble de ces caractères morphologiques, l'Infusoire en question se rapproche le plus du *Glenodinium cinctum*, qu'on a toujours considéré comme habitant l'eau douce. Transporté dans l'eau salée, cet Infusoire a pu acquérir la phosphorescence, ainsi qu'on l'a observé chez les bactéries luisantes qui perdent peu à peu cette faculté après leur transport dans les milieux non salés.

Nous n'oserons pas affirmer que l'on peut arriver à faire luire le *Glenodinium* d'eau douce, n'en ayant pas sous la main pour le moment.

Nous pouvons ajouter qu'on n'observe pas de phosphorescence quand la quantité des Infusoires se montre insuf-

fisante; pour qu'elle s'accuse distinctement, il faut que l'eau soit surabondamment peuplée d'organismes phosphorescents.

Engagé à m'occuper de cette question par M. le professeur F.-M. Kamiensky, je saisis avec empressement l'occasion qui m'est offerte pour lui exprimer publiquement mes profonds et sincères sentiments de gratitude; je prie également M. le professeur A.-O. Kowalewsky et le Dr J.-Z. Bardach, qui se sont intéressés à mes recherches, d'accepter tous mes remerciements pour les conseils éclairés qu'ils m'ont toujours donnés.

BIBLIOGRAPHIE

1° Duclaux. — Sur les microbes phosphorescents (*Annales de l'Inst. Pasteur*, 1887 ; *Revue critique*).

2° Ludwig. — Die bisherigen Untersuchungen über leuchtende Bacterien (*Centralbl. f. Bact. u. Paras.*, Bd. II., 1887, nos 13 et 14).

3° Zoyf. — Die Pilze, 1890.

4° Fischer. — Ueber einen lichtentwickelnden im Merwasser gefundenen spaltpilz (*Zeitschrift f. Hyg.*, Bd. II, 1887).

5° Foester. — Ueber einige Eigenschaften leuchtender Bakterien (*Centralbl. f. Bact. u. Paras.*, Bd. II, 1887, n° 12).

6° Beyerinck. — Over lichtwedsel en plastiset voedsel van Lichtbacteriën Ref. (*Centralbl. f. Bact. u. Paras.*, Bd. VII, VIII, 1870).

7° Dubois. — Sur la rôle de la Symbiose chez certains animaux marins lumineux (*Comptes rend. de l'Acad. des sciences de Paris*, t. CVII, 1888).

8° Giard. — Sur l'infection phosphorescente des Talitres et autres Crustacés (Paris, 1889).

9° Katz-Oscar. — Zur Kenntniss der Leuchtbacterien (*Centralbl. f. Bact. u. Paras.*, Bd. IX, 1891).

10° Lehman (V.-B.). — Studien über *Bacterium phosphorescens* Fischer (*Centralbl. f. Bact. u. Paras.*, Bd. V, 1889).

11° Russell. — Impfungsversuche nutz *Giard's* pathogenem Leuchtbacillus (*Centralbl. f. Bact. u. Paras.*, Bd. XI, 1892).

12° Ludwig. — Ueber Phosphorescenz von *Gryllotalpa vulgaris* (*Centralbl. f. Bact. u. Paras.*, t. IX, 1891).

13° Panceri. — Etudes sur la phosphorescence des animaux marins (*Annales des sciences naturelles*, Ve série ; *Zoolog. et Paléont*, t. XV, 1872).

14° Pflüger. — Ueber die physiologische Verbrennung in dem lebendigen Organisma (*Arch. f. d. Ges. Physiologie*, Bd. X, 1875, p. 275, § 5).

15° Radzischewsky. — Ueber die Phosphorescenz der organischen und organisiten L'orfer (*Ann. de chimie*, Bd. 203, 1880, p. 305-335).

16° Cienkowsky (L.-S.). — Ueber *Noctiluca miliaris* (*Archiv. f. mikr. Anatomie herausg. u. Max. Schultze*, IX, 1872).

17° Stein. — Der organismus der Arthrodelen flagellaten III (Halfte, 1883).

18° Bergh. — Der organismus der Cilioflagellaten (*Morphologischer Jahrbuc. heraurg. u. Carl Gegenbaur*, VII, 1882, p. 177).

19° Boutschinsky. — Faune des limans (lacs salés).

20° Bütschli. — Protozoa (*Bronn's Classen und Ordnungen des Thierreichs*).

NOTE SUR L'ACTION TOXIQUE

DES

PRODUITS DE CULTURES DE LA TUBERCULOSE AVIAIRE (1)

PAR

Ed. de FREUDENREICH

Dans le cours de quelques expériences faites au commencement de 1891 dans le but de déterminer combien de temps le bacille de la tuberculose peut vivre et rester virulent dans un fromage de l'Emmenthal, j'arrivai à des résultats qui me parurent inexplicables alors, mais dont les publications (2) qui se succédèrent depuis sur la différence qui existe entre la tuberculose aviaire et celle de l'homme me donnèrent la clef. Bien que cette expérience soit sans valeur à l'égard du point spécial que j'avais en vue, ses résultats sont assez curieux pour qu'il vaille, peut-être, la peine de les relater brièvement à titre de modeste contribution à l'étude de la tuberculose aviaire.

Dans mes expériences j'avais ajouté à 10 litres de lait 300 grammes d'une culture de tuberculose sur bouillon glycériné, additionnée d'une émulsion de trois cultures sur agar glycériné, et de ce lait j'avais fait un fromage pareil à ceux que je fais dans mes expériences sur la maturation et les maladies des fromages. Le fromage fut placé dans la cave à fromages de l'école de la Rütti, et de temps à autre j'en prenais un échantillon pour l'inoculer à des lapins. Dans ce but j'en triturais un petit morceau dans un peu d'eau

---

(1) Publié dans le *Landwirthschaftliches Jahrbueh der Schweiz*, 1892.

(2) Voir Grancher et Ledoux, Lebard : Etudes sur la tuberculose expérimentale du lapin (*Archives de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique*, III, 145) Angeer Maffenel, Ueber Hühnertuberculose (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrenskheiten*, XI, p. 445), et d'autres encore.

stérilisée que j'injectais, après filtration sur du papier, dans la veine de l'oreille d'un lapin à la dose d'un centimètre cube, mode d'inoculation qui, d'après les expériences de M. Yersin, amène le plus rapidement la mort de l'animal.

Je fais suivre ici les résultats de cette expérience.

On fabrique un fromage, comme il a été dit plus haut, le 31 janvier 1891. A titre de contrôle, un lapin reçoit dans la veine de l'oreille 1 centimètre cube d'une émulsion faite avec un morceau de bon fromage acheté sur le marché. Cet animal resta en bonne santé. Un second lapin fut inoculé avec la culture ayant servi à infecter le fromage. Celui-ci mourut très amaigri le 24 mars. Point de bacilles dans les organes, ni aucune altération tuberculeuse.

Le 10 février, un lapin est inoculé de la façon indiquée avec le fromage infecté. Il meurt, excessivement amaigri, le 14 mars. Point de bacilles dans les organes.

Le 25 février, on inocule un second lapin, qui meurt aussi, très amaigri, le 2 avril. Point de bacilles dans les organes. Sur le dos un abcès dont le pus est inoculé avec résultat négatif à un cobaye. Un second cobaye inoculé avec le suc du foie reste également en bonne santé.

Le 10 mars, on inocule un troisième lapin. Dans les préparations microscopiques faites avec l'émulsion ayant servi à l'inoculer, on trouve des granulations se colorant en rouge comme le bacille de la tuberculose, tandis que les autres bactéries de cette émulsion se colorent en bleu. Cet animal maigrit aussi excessivement et succombe le 12 juillet. Aucun bacille dans les organes ni dans le pus d'un abcès siégeant sur la paroi abdominale.

Le 25 mars, on inocule un quatrième lapin. Dans l'émulsion servant à l'inoculation on trouve quelques bacilles. Ce lapin maigrit de même et meurt le 3 mai, sans que l'examen fasse déceler de bacilles dans les organes.

Le 30 avril, inoculation d'un cinquième lapin qui meurt de pneumonie le 19 mai.

Le manque constant de lésions tuberculeuses me fit interrompre l'expérience, dans l'idée qu'une cause encore inexpliquée faisait périr mes animaux d'expériences. Je renouvelai cependant encore l'expérience de contrôle, pour être bien sûr que la mort n'était pas due simplement aux pro-

duits de maturation du fromage. J'inoculai, dans ce but, quatre lapins, le 2 avril 1892, toujours par la voie intraveineuse, avec une émulsion préparée avec un bon fromage dont la maturation était achevée. Un de ces lapins fut donné par erreur ; à ce moment, il se portait parfaitement bien. Un second, près de mettre bas, mourut le 2 mai d'une cause inconnue, en parfait état. Les deux autres restèrent en bonne santé. Il résulte donc de ceci que les produits de maturation du fromage n'exercent pas d'influence nuisible sur le lapin. Quand parurent les publications précitées sur la tuberculose aviaire et la tuberculose humaine, tout me fut expliqué. Ma culture de tuberculose, que je devais à l'obligeance de M. le professeur Grancher, m'avait été donnée, il y a plusieurs années, à une époque où la tuberculose de source aviaire était considérée comme identique à celle de l'homme. Elle avait tous les caractères que les auteurs susnommés reconnaissent à la tuberculose aviaire. D'autre part, les lésions que j'avais observées, savoir : un amaigrissement excessif, sans tubercules, sont précisément celles que l'on observe généralement chez les lapins auxquels on inocule des cultures de tuberculose aviaire. J'avais ainsi, sans intention, fourni une contribution à l'étude de cette forme de tuberculose. On peut seulement se demander si la mort a été due à une prolifération des bacilles accompagnée de sécrétion de produits nocifs, ou bien aux toxines introduites dans le fromage lors de sa fabrication. Cette seconde hypothèse me paraît la plus vraisemblable, car, d'une part, j'avais ajouté au lait une forte quantité de cultures et, avec celles-ci, de toxines, et, d'autre part, je n'avais jamais pu, à l'autopsie, trouver de bacilles dans les organes ; de même, toutes les tentatives de culture et d'inoculation que j'avais faites avec le suc des organes des lapins morts à la suite de ces inoculations avaient abouti à des résultats négatifs. Il est seulement remarquable que les petits morceaux de fromage ayant servi à l'inoculation aient contenu assez de toxines pour amener la mort des animaux d'expériences avec une telle régularité.

REVUES ET ANALYSES [1]

H.-L. Russell. — **Bacterial investigation of the sea and its floor. Recherches sur les bactéries de la mer et de ses profondeurs** (*The Botanical Gazette*, n° 10, 1892).

Les résultats fournis par l'auteur ont été obtenus soit à la station zoologique de Naples, soit au laboratoire maritime de biologie de « Wood's Holl », Massachusetts; la distance qui sépare ces deux localités donne plus de poids à une étude comparative.

On a bien décrit çà et là quelques formes de bactéries marines, en particulier celles qui sont en relation avec la phosphorescence de la mer; mais M. Russell s'est placé à un point de vue tout nouveau et excessivement intéressant.

Au moyen d'un appareil de son invention, il a fait l'étude bactériologique de l'eau à diverses profondeurs, pour y rechercher les variations du nombre des bactéries; à l'aide d'un autre appareil, il a également, à des profondeurs variables, recueilli et étudié la boue qui se trouve au fond de la mer.

Dans ces expériences, M. Russell a eu soin d'éviter les causes d'erreur pouvant provenir du voisinage de la terre: il a trouvé que les couches d'eau superficielles renferment toujours de nombreux microorganismes; les analyses faites à Naples ont montré, de plus, que les bactéries se rencontrent à tous les niveaux, depuis la surface jusqu'à une profondeur de 3,000 pieds. On sait, à la suite des études du Challenger, que la faune marine se divise en zone superficielle et zone abyssale; cette distinction n'existe pas dans la distribution des bactéries.

Le nombre des bactéries par centimètre cube varie de 10 à 150, ce qui montre que ces microorganismes sont moins abondants dans la mer que dans l'eau douce.

La boue qui recouvre le fond de la mer est très riche en bactéries: à Naples, les études se sont étendues à partir du rivage jusqu'à une profondeur de 3,500 pieds; à deux milles de la terre, il y avait à 150 pieds de profondeur 200,000 à 300,000 germes par cen-

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal

timètre cube ; à 700 pieds, il n'y avait plus que 25,000 germes ; ce nombre restait à peu près constant jusqu'à 3 500 pieds.

L'auteur est arrivé ainsi à se demander si les bactéries de cette boue marine étaient dues exclusivement aux bactéries qui vivent dans les couches d'eau supérieures et tombent ensuite au fond sous forme de spores, après avoir terminé leur cycle de développement ; les résultats des cultures ont montré qu'il y a des espèces marines particulières au fond de la mer, espèces qui s'y trouvent en pleine activité végétative ; l'une de ces espèces, le *Cladothrix intricata* commence à disparaître à la profondeur de 3,500 pieds ; deux autres sont encore abondantes à ce niveau. M. Russell se propose d'étendre ces recherches si intéressantes. P.-A. D.

A. Artari. — **Untersuchungen über entwicklung und systematik einiger Protococcoideen. Recherches sur le développement et la classification de quelques Protococcoïdées** (*Bulletin de la Société impér. des naturalistes de Moscou*, n° 2, 1892).

Dans ce travail entrepris sous la direction du professeur Klebs, M. Artari s'est proposé d'étudier les Protococcoïdées, surtout celles qui sont considérées comme formes douteuses : il s'est efforcé de varier le plus possible les conditions de culture, ce qui lui a permis de constater que cette influence des divers milieux employés ne se faisait sentir que dans des limites étroites et bien déterminées, ne portant aucune atteinte à la distinction spécifique.

L'auteur étudie un assez grand nombre d'espèces : quelques-unes sont nouvelles, ce sont : *Gloeocystis Nægeliana*, *Pleurococcus simplex*, *P. conglomeratus*, *P. regularis*, *P. Beyerinckii*, *Chlamydomonas apiocystiformis*.

Le genre *Chlorosphæra* Klebs est quelquefois considéré comme une des formes de développement d'une Confervoïdée ; or, le *Chlorosphæra angulosa* a pu être suivi pendant plusieurs générations, et il n'a présenté aucune modification de forme notable ; les trois autres espèces du genre *C. endophyta*, *C. alismalis* et *C. consociata* sont décrites d'après les notes et les dessins du professeur Klebs.

Le mémoire se termine par des considérations sur la classification dans le groupe des Protococcoïdées, qui est divisé en 8 familles : *Gloeocystiaceæ*, *Pleurococcaceæ*, *Chlorosphæraceæ*, *Tetrasporaceæ*, *Chlamydomonadaceæ*, *Volvocaceæ*, *Endospæhraceæ*, *Hydrodictyaceæ ;* la première famille provient d'un nouveau démembrement des Pleurococcacées, et elle devrait comprendre, selon M. Artari, tout d'abord les genres *Gloeocystis* et *Palmella*, puis les *Schizochlamys*, les *Palmodictyon*, *Palmophyllum* et *Dimorphococcus*.

P. Hariot. — Un nouveau champignon lumineux de Tahiti (*Journal de botanique*, novembre 1892, n° 21)

Le genre *Pleurotus*, auquel appartient ce champignon, renferme quelques espèces phosphorescentes : *P. phosphorus*, *Prometheus*, *noctilucens*, etc. Le *Pleurotus Lux* Hariot se distingue des précédents par des caractères de section et par l'exiguïté de ses dimensions ; il émet, pendant la nuit, une vive lueur analogue à celle qui est produite par les vers luisants ; et les indigènes de Tahiti en faisaient autrefois, paraît-il, des fleurs artificielles en les attachant à un brin d'herbe et en les introduisant ensuite dans une fleur qu'ils plaçaient dans leurs cheveux.

Cette espèce est caractérisée de la façon suivante par l'auteur :

Pleurotus Lux n. sp.

P. pileo dimidiato, applanato, 1 cent. diam ; deorsum truncato, stipitato, fusco-cinereo, margine integro obtusius-culo, sub-revoluto, basi incrassatulo, tomento furfuraceo cinereo vix visibili-tecto, stipite canescente, cir. 2 mm. longo ; lamellis plus minus confertis, crassiusculis, membranaceis, albido-griseis, opacis, integris inter se pro maxima parte liberis, deorsum plus minusve confluentibus, carne albida 0 mm, crassa, sporis rotundatis, hyalinis lævibus, 4 *t*.

Species eximia, per noctem lucifera, a Cl.-G. Brunaud in Borabora et Tahiti insulis detecta.

P. A. D.

Dr S. Kitasato. — Manière d'obtenir des cultures pures du bacille tuberculeux et d'autres bactéries pathogènes du sputum (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XI, p. 440).

Dr E. Pastor. — Une méthode pour obtenir des cultures pures du bacille tuberculeux des expectorations (*Centralblatt für Bakteriologie*, XI, p. 233)

On sait à quelles difficultés on se heurte quand on cherche à isoler le bacille de la tuberculose du sputum. Le grand nombre d'organismes que contient ce dernier, et qui croissent beaucoup plus rapidement que le bacille de Koch, a presque constamment fait échouer toutes les tentatives faites dans ce but.

M. Kitasato nous indique dans le travail que nous citons un moyen qui lui a pleinement réussi et qui avait déjà été employé avec succès par M. Koch. On choisit une parcelle prise dans un sputum expectoré le matin, et on le lave au moins dix fois de suite dans de l'eau stérilisée pour le débarrasser des microbes étrangers qui pourraient adhérer à la surface. Le mieux pour cela est de se

servir d'une série de boîtes de Petri remplies d'eau stérile. Dans la dernière on déchire la parcelle de sputum, et on examine au microscope un petit morceau de la partie centrale. Quand on n'y trouve que des bacilles tuberculeux, ce qui est fréquemment le cas, on pratique des ensemencements sur du sérum ou de la gélose glycérinée. On peut ainsi obtenir des cultures pures. Les premières colonies ne se montrent qu'après 2 semaines; elles sont rondes, et forment des taches blanches et opaques, qui s'élèvent au-dessus de la surface de l'agar. Elles sont humides, brillantes et lisses, ce qui les distingue des colonies obtenues par l'ensemencement de parcelles d'organes tuberculeux. Mais ces différences s'effacent dans la suite, et après 4 semaines les cultures de sputum ne se distinguent plus du tout de celles provenant d'organes.

On procède de la même manière pour faire des cultures avec le contenu des cavernes fermées des poumons.

Mais ce qu'il y a de plus curieux dans le résultat des recherches de M. Kitasato, c'est le fait, constaté par lui, que la plupart des bacilles contenus dans le sputum ou dans les cavernes étaient morts. Microscopiquement, il était impossible de le constater, car tous se coloraient également bien. Cependant, lorsqu'on ensemence, ainsi qu'il a été dit plus haut, des parcelles de sputum, on voit que les colonies ne se développent qu'à certains endroits. Aux autres on ne voit naître aucune colonie, bien qu'en raclant la surface de l'agar à ces endroits et en faisant des préparations on trouve une masse de bacilles se colorant parfaitement. Lorsqu'on les inocule à des cobayes, ceux-ci restent indemnes. Ce fait expliquerait peut-être pourquoi, malgré le grand nombre de phtisiques dont les expectorations se mêlent au sol, la contagion est relativement peu fréquente. Il ne faudrait toutefois pas en conclure que la désinfection des crachats tuberculeux soit une mesure superflue. Il suffit, en effet, qu'ils contiennent quelques bacilles vivants pour que la possibilité d'une contagion existe. Néanmoins, les recherches de M. Kitasato pourront contribuer à rassurer quelque peu les personnes timorées que la crainte du microbe empêche de dormir.

Dans le second travail dont nous avons donné le titre, M. Pastor indique, à son tour, une méthode pour recueillir le bacille tuberculeux dans le sputum. Son procédé paraît copié sur celui que M. Winogradsky a employé pour cultiver les microorganismes de la nitrification.

On lave d'abord le sputum, recueilli, après un nettoyage soigneux de la bouche à l'eau stérilisée, dans un vase stérile, avec de l'eau stérilisée, et on en fait une émulsion dans de l'eau stérilisée avec laquelle on ensemence de la gélatine nutritive que l'on coule en plaques. Au bout de 3-4 jours les microbes vulgaires adhérents au sputum forment leurs colonies, et on ensemence les parties de la gélatine restées stériles sur du sérum de sang.

On voit alors le bacille de la tuberculose croître dans quelques-uns des tubes inoculés. M. Pastor obtenait généralement 1-4 cultures sur 10 tubes ainsi ensemencés.

E. F.

Dr Albert Döderlein. — **La sécrétion vaginale et son importance relativement à la fièvre puerpérale** (Leipzig, chez E. Besold, 1 vol. 86 p.).

En matière d'antisepsie en obstétrique, les savants sont encore partagés en deux camps : les uns, partant de l'idée que des microbes pathogènes peuvent élire domicile dans le vagin, veulent désinfecter le vagin à outrance en vue d'éviter des auto-infections chez les femmes en couches ; les autres, au contraire, pensant que la présence habituelle de ces microbes dans le vagin n'est pas la règle et, s'appuyant sur les résultats cliniques, estiment que trop désinfecter peut nuire, et que les manœuvres exigées par la désinfection peuvent précisément favoriser le transport des germes infectieux dans l'utérus. Ils voudraient, par conséquent, s'abstenir le plus possible. Le livre intéressant de M. Döderlein fait justice d'assertions trop hardies, énoncées dans le feu de l'enthousiasme provoqué par les découvertes de la microbiologie, et basées sur des observations bactériologiques superficielles, et tend à confirmer qu'ici comme ailleurs un excès de zèle ne peut que nuire.

Se fondant sur l'examen de 195 femmes enceintes, et comparant le résultat de ses observations avec les constatations faites chez des jeunes filles, M. Döderlein arrive d'abord à constater qu'il faut, en premier lieu, distinguer entre deux sortes de sécrétions vaginales: l'une est normale et se trouve chez les vierges et chez une partie des femmes enceintes, l'autre est anormale et l'indice d'un état pathologique. La sécrétion normale est blanchâtre, grumeleuse et a la consistance du lait caillé. Sa réaction est constamment fortement acide, et, ce qui est caractéristique, on n'y trouve le plus souvent qu'une seule espèce de microorganismes, un bacille que nous décrirons tout à l'heure, et quelquefois aussi le champignon du muguet sous la forme de levures. La sécrétion pathologique est jaunâtre, crémeuse, peu acide, souvent même neutre ou alcaline, et héberge les microorganismes les plus divers. Sur 195 femmes enceintes, 108, soit 55,3 p. 100, offraient la même sécrétion normale que l'on trouve chez des vierges dont le vagin peut être considéré comme physiologiquement normal et sain. Chez 44,6 p. 100, la sécrétion présentait un caractère anormal. Chez les primipares, la proportion est encore plus favorable; chez 63,7 p. 100 de celles-ci, en effet, la sécrétion était normale.

Le bacille que l'on trouve généralement à l'état de pureté dans

la sécrétion normale se cultive difficilement. Quand on l'inocule directement sur gélatine ou agar, il ne se développe pas, même quand la sécrétion en contient un grand nombre. Avec le bouillon sucré on obtient de meilleurs résultats, et l'on peut alors après 24 heures passées à l'étuve ensemencer ce bouillon sur agar glycériné. On obtient dans ce cas des colonies formées de gouttelettes très fines. Les cultures sont très sensibles à la dessiccation ; c'est pourquoi l'addition de glycérine est importante. Elles croissent un peu mieux à l'abri de l'air. On peut aussi cultiver ce bacille dans du lait et du sérum de sang. Sur pomme de terre, il se refuse à croître. Dans le bouillon, il se laisse cultiver pendant plusieurs générations. Il ne croît qu'à la température du corps et est immobile. Il est producteur d'acide, et c'est à cette propriété que l'auteur attribue l'acidité de la sécrétion vaginale normale et l'absence d'autres microorganismes, en particulier des microbes pathogènes. M. Döderlein montre, en effet que, si l'on ensemence le bacille en stries parallèles sur de l'agar, et que, quand elles se sont développées, on fait verticalement à ces stries d'autres stries avec un fil de platine chargé de staphylocoques dorés, on voit ces derniers se développer seulement à distance des stries chargées du bacille. Il constate, de plus, que des staphylocoques injectés dans un vagin de vierge contenant les bacilles normaux, y périssent rapidement. Après 24 heures, il ne put isoler de la sécrétion vaginale que trois colonies de staphylocoques, et après 4 jours il n'y en avait plus un seul de vivant. Ces bacilles protégeraient donc le vagin contre l'invasion des microbes étrangers. Ils n'exercent, en outre, aucune action pathogène sur les animaux, qu'on les inocule en cultures pures ou avec la sécrétion vaginale normale. Quand la sécrétion cesse d'être normale et devient pathologique, ce qui se produit, p. ex., dans les lochies et les inflammations catarrhales ou à la suite de sécrétions exagérées provoquées par des inflammations externes (pessaires de Meyer), sécrétions qui changent les conditions habituelles du vagin et en font un bon milieu de culture pour divers microbes, on voit ceux-ci pulluler, et les microbes de la suppuration (staphylocoques) s'y trouvent fréquemment. M. Döderlein provoquait, en effet, des suppurations chez les lapins inoculés avec des sécrétions pathologiques, et en a souvent isolé les staphylocoques pyogènes. Il est à remarquer cependant que l'augmentation de la sécrétion vaginale que l'on observe chez les femmes enceintes n'a rien d'anormal et ne nuit pas aux bacilles de la sécrétion normale ; la sécrétion reste acide et continue à constituer une barrière à l'invasion des microbes étrangers. La question qui se pose maintenant est de savoir si une sécrétion pathologique est un danger au point de vue de la fièvre puerpérale.

Les staphylocoques pyogènes, dont la présence est presque constante dans ces sécrétions anormales, n'entrent pas ici en ligne

de compte. En effet, bien que la présence de ces microorganismes ne soit pas indifférente en raison des lésions et des complications qu'ils peuvent amener, ils ne semblent pas être la cause de la fièvre puerpérale. Celle-ci paraît presque toujours due au streptocoque. Il résulte effectivement des travaux résumés par l'auteur que le streptocoque a été trouvé 80 fois dans 84 cas de fièvre puerpérale. La sécrétion vaginale n'entraînera donc un danger de fièvre puerpérale à sa suite que quand elle contiendra le streptocoque. Or ceci est un fait qui se présente plutôt rarement d'après M. Döderlein, qui ne l'a trouvé que dans 9,2 p. 100 des cas de sécrétions vaginales pathologiques, soit dans 4,1 p. 100 des 195 cas examinés par lui (sécrétions normales et anormales). Encore ces streptocoques ne se montrèrent-ils virulents que dans 5 cas sur 7.

De toutes ces recherches M. Döderlein conclut que tout danger d'auto-infection est écarté en cas de sécrétion normale (55,3 p. 100 des cas). Il n'y aurait ici à tenir compte que du danger d'une infection subséquente tardive, après l'accouchement, quand les lochies ont changé le caractère habituel de la sécrétion, et l'exposent à l'entrée des germes du dehors. Ainsi que nous l'avons dit plus haut, cette proportion est encore plus favorable pour les primipares (63,7 p. 100). Chez 35,5 p. 100 des femmes enceintes soumises à son examen, la sécrétion était pathologique, mais sans streptocoques. Dans 90,8 p. 100 des cas, la sécrétion vaginale ne serait donc jamais une source d'infection. Il est à remarquer que cette statistique, basée sur des cas recueillis à l'hôpital, et, par conséquent, souvent défavorable, donnerait des résultats plus encourageants encore si elle était basée sur des cas recueillis dans la clientèle privée. Dans tous ces cas-là, l'accoucheur fera bien d'éviter tous les attouchements et manœuvres inutiles qui ne pourraient que faciliter une hétéro-infection. Une désinfection du vagin sera donc plutôt superflue, sinon même nuisible. Dans les cas où la sécrétion contient des streptocoques, il y aura, par contre, un certain danger d'infection, mais là, surtout, il faudra éviter d'introduire, à moins de nécessité absolue, le doigt ou des instruments, attendu que ceci risque de rapprocher mécaniquement les germes virulents de l'utérus, et de faciliter une infection. Même l'introduction d'une canule pour désinfecter le vagin ne serait, pour ce motif, pas sans un certain danger, d'après M. Döderlein. En résumé : s'abstenir, lors de l'accouchement, de tout examen interne, même dans les cas de sécrétion pathologique, à moins que ces manœuvres ne soient nécessitées par un but thérapeutique ou de diagnostic. C'est, on le voit, la manière de voir qui tend à se généraliser aujourd'hui chez une partie des gynécologistes.

M. Döderlein étudie enfin le meilleur moyen de désinfection du vagin, mesure qui, si elle doit être rejetée généralement au

moment de l'accouchement, est recommandable, en cas de sécrétion pathologique, quand on y procède déjà au cours de la grossesse. Les simples injections du vagin avec des désinfectants tels que le sublimé, l'acide phénique, la créoline, etc., sont impuissantes à amener un état aseptique du vagin. On a proposé un nettoyage mécanique en frottant énergiquement les parois vaginales avec des tampons imbibés de ces désinfectants. On désinfecte, ainsi, bien tous les replis de la muqueuse, mais on en facilite les érosions et les lésions, et sa lubrifaction, si nécessaire pendant l'accouchement, en pâtit. Le lysol, récemment recommandé dans ce but, obvie à ce dernier inconvénient; mais tous ces moyens ne procurent pas un état aseptique permanent.

M. Döderlein a cherché, pour cela, à rendre d'abord à la sécrétion vaginale son caractère normal. L'acidité en étant un indice caractéristique, il a commencé par des injections, répétées trois fois par jour, de solutions d'acide lactique (1 p. 100). C'est, en effet, l'acide qui, d'après les analyses, se trouve contenu dans les sécrétions normales. Au bout de 3 à 4 jours, quelquefois après 14 jours et plus, seulement, on voit la sécrétion reprendre ses caractères habituels, les microorganismes étrangers disparaître, tandis qu'au contraire les bacilles habituels de la sécrétion vaginale normale font de nouveau leur apparition. Or leur présence suffit désormais pour protéger le vagin contre une nouvelle infection. Avec d'autres désinfectants, on ne provoque pas leur réapparition, et l'état aseptique qu'ils procurent cesse bientôt, car, tant que la sécrétion n'a pas repris son caractère normal, elle se réinfecte facilement La méthode préconisée par l'auteur n'a eu que rarement des insuccès. Il s'agissait peut-être alors, il le pense du moins, de cas dans lesquels le col était déjà infecté. Celui-ci, étant chez les femmes enceintes inaccessible aux irrigations, aurait causé des réinfections.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Septembre* 1892

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 35 du 28 Août au 3 Septembre 1892.	10.000	1.170	18°,1	5mm,0	SW	17km,7	465	60
N° 36 » 4 Septembre » 10 » » .	5.000	509	12 ,2	5 ,6	NW	10 ,5	339	64
N° 37 » 11 » » 17 » » .	8.500	670	17 ,6	5 ,3	Var.	10 ,1	246	67
N° 38 » 18 » » 24 » » .	6.200	1.800	17 ,2	0 ,3	Var.	7 ,3	215	67
N° 39 » 25 » » 1er Octobre » .	4.330	1.340	15 ,6	23 ,5	SW	15 ,5	255	68
MOYENNES ET TOTAUX	6.800	1.095	16°,1	39mm,7	W	12km,2	1.520	326
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aigues des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Septembre 1892. Bactéries = 500 Moisissures = 1.500 Température = 15°,7

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Septembre 1892. Bactéries = 145 Moisissures = 115 Température = 16°,1

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Septembre* 1892

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Septembre 1892	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	365	1.240	»	Canalis. = 3.600 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	350	2.900	»	Canalis. = » »
» » » »	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	9.000	58.550	18°,0	»
» de la Seine à Ivry	24.000	56.185	18°,1	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	99.000	73.500	»	Hauteur = 0ᵐ,68
» de la Seine au pont de l'Alma	1.095.000	177.625	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	12.000	76.545	»	»
» d'autres provenances.	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits Guénegaud, à Paris.	80.000	»	»	»
» Courtille à Alfortville	520.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	500	2.375	»	»
» d'Argenteuil	33.000	11.195	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	28.500.000	16.270.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	8.000.000	29.645.000	»	»
» » traitée à Bondy.	860.000	55.020	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Octobre* 1892

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 40 du 2 Octobre au 8 Octobre 1892 .	2.840	830	11°,6	30mm,6	S.W	16km,7	166	71
N° 41 » 9 » » 15 » » .	5.000	1.670	8 ,9	17 ,3	S.E	13 ,8	150	61
N° 42 » 16 » » 22 » » .	2.650	1.165	7 ,1	10 ,4	N.W	10 ,3	123	82
N° 43 » 23 » » 29 » » .	1.160	1.160	8 ,4	77 ,0	Var.	14 ,0	130	128
» » » » » .	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	2.910	1.205	9°,0	135mm,3	Var.	13km,7	569	342
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneu-monie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Octobre 1892. Bactéries = 7.670 Moisissures = 5.300 Température = 12°,9

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Octobre 1892. Bactéries = 99 Moisissures = 131 Température = 9°,0

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Octobre* 1892

DESIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Octobre 1892	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	2 860	1.240	»	Canalis. = 2.000 bactér.
» de la Dhuis à Ménilmontant.	2.300	2.900	»	Canalis. = 1.800 »
» » »	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	27.700	58.550	11°,4	»
» de la Seine à Ivry	54.000	56.185	11°,4	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	120.000	73.500	»	Hauteur = 1^m,8
» de la Seine au pont de l'Alma.	590.000	177.625	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	78.000	76.545	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits Guénégaud à Paris	7.000	»	»	»
» Langlois à Bezons	23.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	2.000	2.375	»	»
» d'Asnières	2.400	1.115	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	17.000.000	16.260.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	4.000.000	29.645.000	»	»
» » traitée à Bondy	300.000	55.020	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

Dr K. Yamagiwa. — Versuchsresultate über die Wirkung des Tuberculins auf die Impftuberculose des Meerschweinchens und Kaninchens. Résultats d'expériences sur l'action de la tuberculine sur la tuberculose expérimentale des cobayes et lapins (*Virchow's Archiv*, XII, p. 337).

Dr A. Schönwerth. — Ueber die Möglichkeit einer von Brunnenwasser ausgehenden Hühnercholera Epizootie. De la possibilité de la transmission d'une épizootie de choléra des poules par une eau de fontaine (*Archiv für Hygiene*, XV, p. 61).

Prof. H. Buchner. — Ueber den Einfluss des Lichtes auf Bakterien. Zweite Mittheilung. De l'influence de la lumière sur les bactéries. Seconde communication (*Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde*, XII, p. 217).

H.-W. Conn. — Isolirung eines « Lab » Fermentes aus Bakterienculturen. Isolement d'une présure de cultures bactériennes (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 223).

Dr H. Laser. — Untersuchungen über Saprol, ein neues Desinfektionsmittel für Fäcalien. Recherches sur le Saprol, un nouveau désinfectant pour les matières fécales (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 259).

Dr Gasperini. — Ulteriori ricerche sul Gen. Streptothrix. Recherches ultérieures sur le genre Streptothrix (*Estratto dei Processi verbali della Società toscana di scienze naturali residente in Pisa*, 1892).

B.-A. van Ketel. — Beitrag zur Untersuchung auf Tuberkelbacillen. Contribution à la recherche des bacilles de la tuberculose (*Archiv für Hygiene*, XX, p. 109).

Dr H. Scholl. — Untersuchungen über giftige Eiweisskörper bei Cholera asiatica und einigen Fäulnissprocessen. Recherches sur les corps albuminoïdes toxiques dans le choléra asiatique et dans quelques processus de putréfaction (*Archiv für Hygiene*, XV, p. 172).

H. Kionka. — Versuche über die bakterientödtende Wirkung des Blutes. Expériences sur l'action bactéricide du sang (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 321).

Dr L. Heim. — Zur Technik des Nachweises der Cholera vibrionen. Contribution à la technique de la recherche des vibrions du choléra (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 354).

H. Loew. — Ein Beitrag zur Kenntniss der chemischen Fähigkeiten der Bakterien. Contribution à la connaissance des pouvoirs chimiques des bactéries (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 361).

S. Kitasato. — Heilversuche an tetanuskranken Thieren. Essais de guérison d'animaux malades du tétanos (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XII, p. 256).

E. v. Sommaruga. — Ueber Stoffwechselproducte von Mikroorganismen. Sur les produits de culture des microorganismes (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, 273).

Joh. Petruschky. – Ueber die Art der pathogenen Wirkung des Typhusbacillus auf Thiere u. über die Verleihung des Jmpschutzes gegen dieselbe. De la nature de l'action pathogène des bacilles typhiques sur les animaux et de l'immunisation de ceux-ci à leur égard (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, p. 261).

M. Freyer. — Zur Frage der Identität von Varicellen und Pocken Contribution à la question de l'identité de la varicelle et de la variole (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XII, p. 305).

Von Lingelsheim. — Beiträge zur Streptococcenfrage. Contribution à la question des streptocoques (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, p. 308).

S. Kitasato. — Ueber die Tuberculin-Behandlung tuberculöser Meerschweinchen. Sur le traitement des cobayes tuberculeux par la tuberculine (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, p. 321).

H. Bitter. — Ueber die bacterienfeindlichen Stoffe thierischer Organe. Sur les substances bactéricides des organes des animaux (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, p. 328).

E. Czaplewski. — Weitere Untersuchungen über die Immunität der Tauben gegen Milzbrand. Nouvelles recherches sur l'immunité des pigeons à l'égard du charbon (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, p. 348).

Emmerich, Tsuboi, Steinmetz et Lœw. — Ist die bakterientödtende

Eigenschaft des Blutserums eine Lebenäusserung oder ein rein chemischer Vorgang ? La propriété bactéricide du sang est-elle une action vitale ou un processus purement chimique? (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 364, 417 et 449).

L. Luksch. — Zur Differentialdiagnose des *Bacillus typhi abdominalis* (Eberth) und des *Bacterium coli commune*. Contribution au diagnostic différentiel du bacille typhique et du *Bacterium coli commune* (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 427).

O. Loew. — Ueber einen Bacillus, welber Ameisensäure u. Formaldehyd assimiliren kann. Sur un bacille qui peut assimiler l'acide formique et le formaldéhyde (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 462).

Dr H. Moeller. — Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe. Sur le noyau et les spores de la levure (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 537).

P. Bujwid. — Eine neue biologische Reaktion für die Cholerabakterien. Une nouvelle réaction biologique pour les bacilles du choléra (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 595).

Dr Fermi et Dr Celli. — Beitrag zur Kenntniss des Tetanusgiftes. Contribution à la connaissance du virus tétanique (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 618).

L'Éditeur-Gérant : Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

NOUVELLES RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LA

MÉROTOMIE DES INFUSOIRES CILIÉS

Par E.-G. BALBIANI

Deuxième partie (1)

(*Suite*)

Paramæcium Aurelia (2)

S'il était besoin de prouver par un exemple de plus combien il est dangereux, dans les sciences biologiques, de se hâter de tirer des conclusions de faits observés même en assez grand nombre pour qu'on puisse se croire autorisé à les généraliser, l'espèce dont nous allons nous occuper maintenant pourrait nous en fournir l'occasion.

Toutes les observations qui ont été faites jusqu'à ce jour, non seulement chez des Protozoaires de différentes classes, mais aussi chez les végétaux inférieurs, observations que nous avons résumées dans notre précédent Mémoire sur la mérotomie et dans le présent travail, et

(1) Voy., pour la première partie, le tome IV, n°s 8 à 10, 1892, des *Annales de Micrographie*.

(2) A propos de cette dénomination spécifique, je dois dire que je repousse complètement la prétendue distinction que quelques auteurs modernes ont voulu faire entre *P. caudatum* et *P. Aurelia*, en se fondant sur la présence d'un seul micronucléus chez le premier et de deux micronucléus chez le second. Avec Claparède et Lachmann, Stein, Kölliker, Gruber et la plupart des autres observateurs, je ne reconnais qu'une seule espèce de Paramécie, celle à micronucléus simple, à laquelle je conserve, avec les auteurs précédents, la dénomination plus ancienne de *P. Aurelia*. Le prétendu *P. caudatum* n'est qu'une variété très rare, à *deux* micronucléus, de l'espèce précédente, dont elle ne se distingue par aucun autre caractère.

auxquelles nous avons ajouté les résultats de nos recherches personnelles, toutes ces observations, disons-nous, ont montré la faculté que ces organismes possèdent à un si haut degré de régénérer leurs parties perdues, et que cette faculté est placée sous l'influence du noyau renfermé à leur intérieur. En entreprenant sur le *Paramæcium Aurelia* des expériences de division artificielle analogues à celles que j'avais faites sur les espèces dont il a été parlé dans les pages précédentes, je pensais que leurs résultats seraient les mêmes que pour ces dernières, et que j'aurais simplement une confirmation de plus d'une loi qui ne s'était pas encore démentie. Le *Paramæcium* était destiné à lui donner ce démenti, ainsi qu'on le verra par l'exposé de mes observations. Mais disons d'abord un mot du procédé expérimental employé dans ces expériences.

La Paramécie est de toutes les espèces de Ciliés que j'ai essayé de mérotomiser la plus petite, la longueur des plus grands individus ne dépassant pas $0^{mm},20$ à $0^{mm},25$. Aussi ne réussit-on que très rarement, avec la lancette la plus étroite, à sectionner des individus isolés, et il arrive le plus souvent que les fragments se détruisent par diffluence aussitôt après. Cela tient à ce que la plaie produite par la section se referme difficilement par le rapprochement de ses bords ; le plasma intérieur s'échappe à travers ces bords entr'ouverts et vient se détruire au contact de l'eau, tandis que ce liquide s'introduit par la même voie dans l'intérieur du corps et achève la désorganisation du plasma. J'ai signalé des phénomènes analogues chez un autre Cilié, le *Cyrtostomum* ou *Frontonia leucas*, où ils sont aussi une cause fréquente d'insuccès dans les expériences tentées sur cette espèce (1). La raison en est aussi la même que chez cette dernière, savoir : la présence dans l'ectoplasma d'une couche épaisse de trichocystes rigides, qui, en bordant les lèvres de la plaie, leur enlève toute souplesse et ne leur permet de se rapprocher que lentement, favorisant ainsi l'introduction de l'eau dans l'intérieur du corps. Pour toutes ces raisons, j'étais sur le point de renoncer à entreprendre des essais de mérotomie

---

(1) Voir mon Mémoire du *Recueil zoologique suisse*, p. 21.

sur les Paramécies, lorsque l'idée me vint de modifier le *modus faciendi* et d'opérer, non plus sur des individus isolés, mais en masse. A cet effet, après avoir provoqué dans une infusion un abondant développement de Paramécies, je plaçai sur un porte-objet une goutte du liquide de l'infusion contenant plusieurs centaines de ces Infusoires, et à l'aide d'un petit scalpel bien affilé je me mis à les hacher au hasard pendant 1 ou 2 minutes. En portant de temps en temps la lame de verre sous le microscope, je pus me rendre compte de l'effet de ce *massacre*. Des fragments de plus en plus nombreux de Paramécies coupées, les uns plus grands, les autres plus petits, circulaient parmi les individus restés intacts. Un grand nombre de ces fragments, la plupart souvent, étaient en train de se détruire en laissant exsuder le plasma intérieur à travers la plaie béante ; d'autres étaient déjà complètement décomposés et transformés en un amas granuleux. Bientôt tous les fragments viables, après avoir refermé leur plaie et traversé une période d'agitation plus ou moins vive, prirent les allures habituelles aux individus de leur espèce en se mêlant aux groupes de leurs congénères échappés aux atteintes de l'instrument tranchant. Cependant il était facile, même à l'aide d'une simple loupe, de les distinguer parmi ces dernières, soit à leur taille plus petite, soit à la nature de leurs mouvements. En secouant légèrement le porte-objet ou en agitant le liquide avec la pointe d'une aiguille, on mettait en mouvement les Paramécies devenues pour la plupart immobiles et rangées le long du bord aminci de la goutte d'eau étalée sur la lame de verre. Au milieu du va-et-vient des Infusoires s'entre-croisant dans leur course on reconnaît les petits fragments à leurs mouvements plus rapides, traversant comme un trait la nappe d'eau et laissant successivement derrière eux leurs congénères intacts se dirigeant dans le même sens. Les plus longs fragments, ceux qui ne présentent qu'une légère troncature à l'une ou l'autre de leurs extrémités, oscillent en nageant autour de leur axe longitudinal, tout en se dirigeant en ligne droite, et par là se distinguent aisément des individus intacts, qui nagent sans ce balancement latéral.

Un caractère commun de tous les fragments, des

plus grands comme des plus petits, même de ceux qui ne représentent que le tiers ou le quart d'une Paramécie intacte, est de se diriger constamment le pôle antérieur en avant, comme ils le faisaient sur l'individu entier : c'est la loi générale que nous avons vue se vérifier pour toutes les espèces de Ciliés étudiées jusqu'à présent, et que les observations indépendantes de Verworn et les miennes ont pleinement mise en évidence, ainsi que j'ai déjà eu plusieurs fois l'occasion de le rappeler.

Lorsqu'on examine attentivement l'extrémité du fragment qui porte la lésion, on constate que cette extrémité n'offre pas le même aspect suivant que l'animal se présente par la face ventrale ou dorsale ou par une de ses faces latérales. Dans la première situation, le corps paraît nettement tronqué en avant ou en arrière, et se termine brusquement par une ligne tantôt transversale, tantôt plus ou moins oblique à son axe ; les angles que, sur la coupe optique, cette ligne forme avec la ligne de contour du corps sont aussi parfaitement accentués. Vu de côté, le fragment paraît se terminer, soit en avant, soit en arrière, par une extrémité pointue, aspect résultant de ce que les faces ventrale et dorsale ont formé, en se rapprochant pour fermer la plaie, une arête, dont la projection apparaît comme une pointe triangulaire à l'une ou l'autre extrémité du corps. On conçoit d'ailleurs que l'aspect de la lésion peut présenter des variations suivant que l'instrument tranchant a rencontré la surface du corps sous un plan plus ou moins perpendiculaire ou oblique à l'axe.

La description qui précède s'applique indistinctement à tous les fragments observés pendant les premiers jours qui suivent l'opération qui leur a donné naissance, qu'ils contiennent ou non un noyau, ainsi que je m'en suis assuré plus tard. En continuant l'observation les jours suivants, je m'attendais à trouver, par analogie avec ce que j'avais observé chez les autres Ciliés, tous les fragments contenant un noyau régénérés en Paramécies complètes, et les fragments sans noyau détruits sans s'être régénérés; 6, 8, 10 jours après, je fus fort surpris de trouver encore un grand nombre de fragments dont l'aspect était resté exactement le même qu'au premier jour, la troncature du

corps aussi nette, sans trace de tendance à la réparation de la partie perdue. Grâce aux caractères, indiqués plus haut, de forme et de mouvements qui permettent de reconnaître les individus mutilés parmi ceux restés intacts, je pus, avec un peu de patience, à l'aide de la pipette, les isoler pour les étudier plus attentivement. Ma surprise augmenta en constatant dans ces fragments non régénérés un noyau parfaitement reconnaissable à l'aide des réactifs. Ce noyau était, suivant le volume du fragment, tantôt le noyau tout entier de l'individu primitif, tantôt une fraction plus ou moins considérable de celui-ci. Dans plusieurs, le noyau était accompagné du micronucléus soit appliqué à sa surface, soit placé à une distance variable. Chez un très petit nombre de fragments, je ne réussis à déceler aucune trace de substance nucléaire : c'étaient les plus petits, de $0^{mm},10$ à $0^{mm},12$, formés par l'une ou l'autre extrémité du corps.

Il résultait donc de ces faits que, contrairement à toutes les analogies avec les autres Ciliés, les mérozoïtes des Paramécies ne s'étaient pas régénérés en individus complets malgré la présence d'un noyau dans leur intérieur, mais étaient restés exactement dans le même état où ils se trouvaient au début de l'observation. J'ajouterai immédiatement que j'ai pu pendant un mois et plus conserver de semblables fragments d'individus, formés soit par des parties antérieures, soit par des parties postérieures, sans y observer aucune trace de régénération.

En présence d'une exception aussi remarquable, je me suis demandé si, pour exercer son rôle d'agent formatif, le noyau n'exigeait pas, chez notre espèce, des conditions biologiques spéciales qu'il ne rencontrait pas dans mes cultures. En première ligne, il pouvait y avoir insuffisance de nourriture dans mes colonies, formées toujours d'individus plus ou moins nombreux, parmi lesquels un grand nombre étaient restés intacts et faisaient une concurrence active pour les aliments à leurs congénères mutilés et par suite moins aptes à s'alimenter d'une façon suffisante.

Pour vérifier cette présomption, j'isolai sur autant de lames de verres différentes un certain nombre de méro-

zoïtes, dont les uns étaient des individus presque complets, auxquels il ne manquait que le bout antérieur ou postérieur, et dont les autres n'étaient que des moitiés, des tiers ou même des quarts d'individus, représentant des parties antérieures, des parties postérieures ou, plus rarement, des segments médians de Paramécies. L'appareil servant à l'ingestion des aliments, c'est-à-dire la gouttière péristomienne avec la bouche dans laquelle celle-ci s'ouvre à sa partie postérieure, était très inégalement conservée suivant la nature des fragments et ne permettait par conséquent pas à tous de se nourrir également bien. Chez les uns, cet appareil était demeuré intact dans toute son étendue, tandis que chez les autres dont le péristome avait été coupé plus ou moins près de la bouche, les aliments n'étaient plus dirigés aussi sûrement vers l'orifice buccal et ne pénétraient qu'en partie à l'intérieur du corps. Chez d'autres enfin, coupés au niveau de la bouche même ou formés par des fragments sans bouche, aucune parcelle de nourriture ne pénétrait dans leur intérieur.

Tous ces mérozoïtes ou fragments d'individus, ainsi diversement constitués, reçurent la même nourriture, la plus substantielle que j'aie pu me procurer. Elle consistait en des myriades de petites Monades (*Monas termo*) qui s'étaient développées dans une infusion de foin préparée quelques jours auparavant. Pour écarter les organismes éventuels qui eussent pu se développer dans cette infusion, tels que Colpodes, Stylonychies et autres espèces, et qui eussent pu devenir pour nos Paramécies des commensaux redoutables, cette infusion avait été préparée avec de l'eau à 70 degrés centigrades, afin de détruire les kystes qui auraient pu être renfermés dans le foin. Les Monades qui s'y développèrent au bout de quelques jours provenaient soit de kystes de ces Flagellés qui avaient résisté à la température indiquée, soit de germes charriés par l'air et tombés dans l'infusion.

Les mérozoïtes munis d'un appareil buccal bien complet ingérèrent ces Monades avec avidité; au bout de quelques heures, ils en étaient littéralement bourrés, au point d'en avoir le corps gonflé et de paraître complètement opaques à la lumière transmise. Ceux pour-

vus d'une bouche, mais dont la gouttière péristomienne avait été plus ou moins entamée par la section, quoique éprouvant plus de difficulté pour ingérer les Monades, finirent aussi par en absorber une grande quantité. Enfin, les mérozoïtes où la gouttière avait été sectionnée au ras de la bouche, ceux dont la bouche elle-même avait été emportée en partie, et, à plus forte raison, les fragments sans bouche furent dans l'impossibilité de se nourrir et ne tardèrent pas à présenter tous les signes d'une émaciation plus ou moins rapide et prononcée. Nous reviendrons plus tard sur ces derniers fragments ; voyons d'abord comment se comportaient ceux qui se trouvaient en état de prendre de la nourriture. L'exposé de quelques observations particulières, dans lesquelles rentrent les différents cas observés, donnera une idée plus nette des phénomènes que si nous restions dans les généralités.

Expérience I. — Le 5 décembre, à 3 heures 1/2 du soir, une Paramécie a été sectionnée à une petite distance de son pôle antérieur ; la section est nettement transversale et rectiligne (1). Laissée dans la goutte d'eau où l'opération a eu lieu avec un grand nombre de ses congénères intacts ou coupés, et mal nourrie par conséquent, elle n'a montré, le 17, aucune tendance à repousser la partie enlevée. Elle est alors isolée et reçoit pour nourriture de nombreuses Monades de l'infusion de foin dont il a été parlé ci-avant, et dont elle ne tarde pas à se gorger.

Le lendemain matin, je la trouve en voie de division ; l'étranglement du corps a lieu exactement au même point que chez les individus ordinaires, et tous les autres phénomènes sont les mêmes que chez ces derniers. La division est complète à 11 heures 1/4. L'individu postérieur *p* a un aspect parfaitement normal, mais l'individu antérieur *a* présente la même troncature du pôle antérieur que la Paramécie primitive ; il est par conséquent plus court que son congénère postérieur. Les deux rejetons sont élevés séparément et reçoivent la même nourriture que ci-dessus. Le lendemain 19, chacun d'eux s'est divisé en deux ; les deux produits de division de *p* ont une forme complètement normale et

(1) Comme chez c (*fig.* 36).


LIBRARY

sont semblables ; ceux de *a* dissemblables, le postérieur seul étant normal, tandis que l'antérieur est tronqué comme sa mère et son aïeule. Je le désignerai par la lettre a^1 ; a^1 seul est conservé et nourri avec les Monades ordinaires. Le 20, nouvelle division de a^1 en un rejeton postérieur normal et un rejeton antérieur a^2 tronqué : ce dernier est seul gardé, isolé et nourri. Le 21, nouvelle division en *p* normal et a^3 tronqué. Pour abréger le récit, je dirai que, le rejeton antérieur seul des générations issues les unes des autres, étant ainsi successivement mis à part et bien nourri, il s'est produit, jusqu'au 30, sept générations de *a* (a^7), dont toutes présentaient encore la troncature du pôle antérieur. A la quatrième ou cinquième génération, cette troncature était devenue, il est vrai, moins apparente, et l'extrémité antérieure commençait à prendre un contour plus arrondi ; dans les deux dernières générations, elle était même à peine marquée et difficile à reconnaître, ce qui m'engagea à ne pas pousser l'expérience plus loin. J'ajouterai qu'ayant conservé également toute la descendance des rejetons postérieurs des diverses générations isolées de a-a^7, je n'ai pas observé un seul individu anormal parmi les centaines de rejetons dont elle se composait.

Expérience II (II, *fig.* 38). — Une Paramécie issue d'un individu sorti de conjugaison le 12 décembre et possédant par suite un noyau récemment renouvelé et actif a eu, le 2 février suivant, le tiers antérieur du corps emporté par une section nette. Le 12, laissée jusque-là dans le milieu primitif avec beaucoup d'autres individus, aucune régénération de la partie coupée n'a eu lieu. Elle est alors isolée et abondamment nourrie avec des Monades. Le 13, division en un rejeton postérieur *p* normal et un rejeton antérieur *a*, court et tronqué. Les deux rejetons et leurs descendants sont élevés isolément comme dans l'expérience précédente. Dans toute la descendance de *p*, il ne s'est produit aucun individu anormal, tandis que *a* a continué à donner naissance à une série de rejetons antérieurs a^2, a^3-a^5-a^8, dont la troncature n'a cessé d'être apparente qu'au bout de la dixième génération. Cette dixième génération, a^{10}, n'a été produite que le 26 février : il n'a donc pas fallu moins de 14 jours pour que la partie perdue chez l'ancêtre

se fût régénérée chez ses descendants sous l'influence d'une nourriture abondante ayant provoqué de nombreuses reproductions par division, et 24 jours à partir de celui où la lésion a été faite.

Expérience III. — Une Paramécie, dont la partie postérieure jusqu'à une petite distance en arrière de la bouche a été enlevée par une section oblique d'avant en arrière et de gauche à droite, le 5 décembre à 3 heures du soir, est restée jusqu'au 20 dans la culture primitive sans présenter aucune trace de régénération (1). Elle est alors transportée dans quelques gouttes d'infusion de foin où elle s'alimente abondamment de Monades. Jusqu'au 22, ni division ni régénération. Le 23, formation de deux rejetons parfaitement normaux et semblables, dont ni l'un ni l'autre ne montre trace de la lésion de l'individu maternel. Au 28, ils avaient produit ensemble 27 beaux rejetons, tous bien constitués. Cette Paramécie, qui, maigrement nourrie, était restée 15 jours sans se régénérer ni se diviser, avait reproduit la partie perdue dès la première division opérée dans un milieu plus nutritif.

Un grand nombre d'autres observations faites sur des Paramécies ayant subi la résection de leur extrémité postérieure m'ont présenté des résultats analogues, à savoir : la non-régénération de cette extrémité dans un milieu pauvre en éléments nutritifs, et sa régénération rapide, au bout d'un petit nombre de divisions (II, *fig.* 39), quelquefois déjà après la première division, comme dans l'expérience III ci-dessus, sous l'influence de meilleures conditions d'alimentation. En raison de la similitude de ces observations, je ne crois pas nécessaire de les multiplier ici.

J'ai fait aussi de nombreuses expériences sur des individus où la résection a porté sur le pôle antérieur, comme dans les deux premières expériences rapportées plus haut. Les résultats ont été aussi analogues à ceux que j'ai fait connaître : la régénération de la partie soustraite avait lieu au bout d'un temps beaucoup plus long, autrement dit après des divisions plus fréquentes que dans

(1) Comme c (*fig.* 37).

le premier cas, d'où il semble résulter que la reproduction de la partie antérieure du corps est plus difficile que celle de la partie postérieure. Mais, dans tous les cas, la régénération n'avait lieu qu'à la condition que les Paramécies fussent abondamment nourries, car c'est alors seulement qu'elles se trouvaient en état de se diviser et de se régénérer dans leurs produits de division. Dans un milieu pauvre, il n'y avait ni division ni régénération, et elles persistaient dans le même état de mutilation jusqu'à la mort, qui survenait par inanition.

Il me resterait maintenant à faire connaître quelques faits de divisions anormales, donnant lieu à des phénomènes fort singuliers, que j'ai observés chez certaines des Paramécies de cette première série d'expériences; mais, avant de les rapporter, il nous reste à voir ce que deviennent les fragments de ces Ciliés qui, par suite de leur mutilation, sont incapables de prendre de la nourriture. Nous avons déjà vu que ces fragments appartiennent à deux catégories : 1° ceux qui ont été privés de la plus grande partie de leur gouttière péristomienne ; 2° ceux qui sont dépourvus de bouche.

Rapportons encore ici quelques expériences.

Expérience IV. — Le 29 décembre, je découvre, au milieu d'un groupe de Paramécies qui avaient été hachées la veille sur le porte-objet, un fragment antérieur sectionné en avant de la bouche, comme celui représenté pl. II, *fig.* 37, *b*. Ce fragment, long de $0^{mm},17$, est saisi à l'aide de la pipette et isolé dans quelques gouttes de l'infusion de foin, riche en Monades, qui m'avait servi pour les précédentes expériences. Il y vécut parfaitement et se montra très actif, mais ne prit aucune nourriture comme on devait s'y attendre à cause de l'absence de la bouche. Il ne manifesta non plus aucune tendance à se régénérer, et sa taille et son aspect restèrent les mêmes jusqu'au 6 janvier, où je me décidai à l'examiner plus attentivement avant qu'il se détruisît spontanément. La plaie s'était bien cicatrisée et arrondie sur ses bords ; aucune bouche nouvelle ne s'était reformée pour remplacer celle qui avait été enlevée par la section ; mais, outre la vésicule contractile antérieure qui était celle de l'animalcule primitif restée dans le frag-

ment, il s'en était produit une seconde placée vers la partie postérieure de celui-ci, et les deux vésicules s'entouraient pendant leur contraction des canaux radiaires habituels chez les Paramécies. J'ai déjà expliqué antérieurement que la néoformation de la vésicule contractile ne devait pas être interprétée comme un phénomène de régénération organique, mais était un acte purement physique donnant lieu à une dilatation locale du système excréteur du plasma. Ici, la vésicule contractile nouvelle est destinée à suppléer comme réservoir collecteur la vésicule postérieure primitive enlevée par la section ; elle ne la remplace pas morphologiquement, car la partie du corps qui est le siège normal de cette dernière ne s'est pas reproduite, et les vésicules sont placées toutes deux dans la moitié antérieure du corps.

L'intérêt de cette observation résidait surtout dans la présence d'un noyau volumineux, décelé par les réactifs colorants ; ce noyau était même accompagné d'un micronucléus placé sur son côté, et les deux éléments étaient évidemment ceux de l'individu primitif qui étaient restés dans le fragment. Malgré leur présence, aucune régénération n'avait eu lieu chez ce dernier.

Expérience V. — Trois autres fragments antérieurs sans bouche ou dont la bouche avait été coupée en travers, de même origine que le fragment dont il est question dans l'expérience précédente, sont placés ensemble, le 29 décembre, dans le même milieu nutritif que précédemment. Ces trois fragments ont vécu sans se nourrir jusqu'au 13 janvier, où ils ne purent être retrouvés, s'étant probablement détruits par suite de cette inanition prolongée. Dans le cours de cette observation, la présence d'un noyau dans chaque fragment a pu être nettement constatée. Malgré cela, aucun d'eux ne s'était régénéré en une Paramécie complète.

Expérience VI. — Plusieurs fragments, longs de 0mm,10 à 0mm,12, formés par la partie postérieure conique du corps, coupée à la hauteur de la bouche, le 24 novembre, ne présentaient aucune trace de régénération le 17 décembre (II, *fig.* 36, *d*) ; ils étaient alors très pâles et émaciés. Placés, à partir de ce jour, dans quelques gouttes

d'une infusion végétale fourmillant de bactéries et de bacilles, ils y vécurent encore plusieurs jours sans se modifier ni absorber aucune nourriture. A l'examen microscopique, on reconnut dans quelques-uns de ces fragments un petit noyau formé par une fraction du noyau de l'individu sectionné.

Plusieurs autres fragments postérieurs ont vécu dans les mêmes conditions 15 jours et même 3 semaines sans se régénérer. Au moment de la mort, ils étaient tous dans un état d'émaciation extrême comme les fragments précédents.

Pour compléter l'histoire de ces fragments postérieurs, j'ajouterai qu'ils contenaient tous la vésicule contractile postérieure de l'individu primitif, et que celle-ci n'a cessé de se contracter d'une façon régulière pendant toute la vie de ces fragments. Chez quelques-uns, j'ai observé une seconde vésicule qui s'était formée en arrière de la première, tout près de la pointe conique qui terminait le fragment. Cette vésicule nouvelle se contractait également d'une façon rythmique en présentant les phénomènes ordinaires de la pulsation de la vacuole chez les Paramécies, c'est-à-dire le cercle de canaux clairs qui entourent la vacuole au moment de la systole.

Les fragments formés par la partie terminale du corps présentent encore cet intérêt que ce sont les seuls sur lesquels j'ai eu l'occasion de faire des observations sur les mérozoïtes sans noyau chez les Paramécies. Chez ces Ciliés, le noyau a, en effet, presque toujours la forme d'une masse allongée, située dans la partie antérieure ou moyenne du corps; il en résulte que l'on ne rencontre presque jamais de fragments formés de ces parties qui ne contiennent soit le noyau tout entier, soit une portion de celui-ci. Les fragments postérieurs, au contraire, sont assez souvent dépourvus de noyau, surtout lorsqu'ils sont formés par la partie du corps placée en arrière de la bouche (II, *fig.* 36, *e*). Mais ces derniers fragments sont rares ou tellement petits, en raison de la position reculée de l'ouverture buccale, qu'il faut beaucoup de chances pour en trouver quelques-uns de viables. Plus rares encore sont les fragments qui, à la fois, contiennent la bouche et sont

dépourvus de noyau (II, *fig.* 40, *c'*). Ce sont cependant les seuls qui permettent de faire des observations sur le rôle joué par le noyau dans les phénomènes de la digestion. J'ai rencontré toutefois un certain nombre de fragments présentant ces conditions ; ils m'ont servi à faire quelques expériences dont je vais actuellement rendre compte.

Influence du noyau sur la digestion intracellulaire chez les Paramécies

Dans mes précédentes expériences de mérotomie faites sur divers Ciliés, j'ai toujours porté mon attention sur l'influence que le noyau pouvait éventuellement exercer sur la digestion, mais je n'étais arrivé à cet égard à aucun résultat positif, en raison de la difficulté de l'expérimentation. Le moyen le plus simple qui se présente à l'esprit est d'isoler des mérozoïtes sans noyau et d'examiner si les aliments ingérés par eux subissent des modifications analogues à celles qu'elles éprouvent chez les individus normaux de l'espèce. Mais mes essais tentés avec divers Ciliés, tels que le *Cyrtostomum leucas,* les Stentors, le *Loxodes rostrum* ont toujours échoué, soit que ces animalcules se refusassent à ingérer les aliments qu'on leur présentait dans les conditions biologiques insolites où il fallait les placer pour pouvoir les observer, soit que, les acceptant, ils ne montrassent pas d'une manière convaincante que les aliments avaient subi l'influence de la digestion. J'eus alors l'idée de recourir à la vieille méthode déjà employée par Gleichen-Russworm (1777), Ehrenberg (1838), Dujardin (1836-1841), dans leurs essais de nutrition artificielle des Protozoaires, méthode consistant à les nourrir avec des matières tinctoriales, et qui a été employée aussi plus récemment par Engelmann (1),

---

(1) Engelmann, *Protoplasma und Flimmerbewegung. Handbuch der Physiol. von Hermann*, t. I, 1879.

Greenwood (1), Meissner (2), Metchnikoff (3), Le Dantec (4). Le but que se sont proposé ces derniers auteurs n'était pas d'étudier l'influence que le noyau peut exercer sur les phénomènes de la digestion chez les Protozoaires, mais d'examiner les modifications que, suivant leur nature chimique, subissent les différents aliments ingérés, et de déterminer la réaction du liquide digestif qui les rend absorbables par le plasma. Pour reconnaître cette réaction, la plupart de ces observateurs eurent recours au tournesol, qu'ils faisaient ingérer à l'état pulvérulent, et qui, suivant qu'il restait bleu ou virait au rouge à l'intérieur des vacuoles alimentaires devait indiquer la réaction du liquide sécrété par la vacuole. Encouragé surtout par les résultats de Le Dantec, qui chez les Stentors, les Paramécies et autres Ciliés avait constaté le virage au rouge des grains de tournesol avalés et conclu à la réaction acide du liquide vacuolaire, j'ai fait moi-même quelques essais avec le tournesol sur des mérozoïtes de Paramécies que je supposais ne point renfermer de noyau. Je dois dire que, le plus ordinairement, aucune parcelle de cette matière colorante n'apparaissait à leur intérieur ; ou, lorsque quelques très petites granulations bleues y devenaient visibles, leur couleur ne se modifiait pas, et les fragments se montraient indifféremment pourvus ou non d'un noyau quand on venait à les traiter par les réactifs appropriés. Avant de rien vouloir conclure de ces résultats négatifs, je voulus faire l'essai d'une autre substance qui, au dire de Le Dantec, jouit d'une sensibilité beaucoup plus grande que le tournesol comme réactif du liquide intravacuolaire. Cette substance est l'alizarine sulfoconjuguée. Je renvoie au Mémoire précité de cet auteur pour l'intéressante étude qu'il a faite des propriétés de cette substance employée comme réactif dans l'étude de la digestion intracellulaire, et la manière dont il

---

(1) Greenwood, On the digestive process in some Rhizopods. *Journal of Physiology*, t. VII, 1886 ; t. VIII, 1887.

(2) Meissner, Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Protozoen. *Inaug. Diss.*, 1888, et *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, t. XLVI, 1888.

(3) Metchnikoff, Recherches sur la digestion intracellulaire. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889.

(4) Le Dantec, Recherches sur la digestion intracellulaire chez les Protozoaires. *Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*, t. XXIII, 1891.

l'a utilisée dans ses recherches sur ce sujet. Je vais décrire succinctement la méthode qui m'a paru la plus convenable pour la préparation et l'emploi de ce réactif, d'un maniement assez délicat.

L'alizarine sulfoconjuguée est une substance pulvérulente brune, douée d'un pouvoir colorant considérable. Sa solution aqueuse saturée est jaune. L'emploi de ce réactif repose tout entier sur la propriété que présente cette solution aqueuse de prendre, en présence d'un alcali, une coloration variant du rose au violet, en passant par tous les tons intermédiaires, suivant la quantité de la base ajoutée, et de revenir inversement du violet au rose par les mêmes gradations de teintes, lorsqu'on neutralise la base par un acide. M. Le Dantec appelle *zone sensible de l'alizarine* la gamme des tons du rose au violet ou du violet au rose, parce qu'il suffit d'une très légère variation dans le sens de l'alcalinité ou de l'acidité pour produire le virage de la solution dans la série montante ou la série descendante des tons indiqués. Il suffit de comparer dès lors la coloration de l'alizarine après et avant son emploi comme réactif pour reconnaître si l'on a affaire à une sécrétion alcaline ou acide, ainsi que l'intensité de la réaction produite.

Lorsqu'on veut faire usage de la solution violette, qui est de tous les tons de la zone sensible celui dont le virage à un ton inférieur de la série violet-rose, sous l'influence d'un acide, présente la plus grande netteté, il faut certaines précautions pour obtenir une teinte violette aussi franche que possible. Le Dantec y parvient en dissolvant l'alizarine dans de l'eau dans laquelle vivent les Protozoaires, eau qui, suivant lui, est le plus souvent légèrement alcaline, et donne à la solution une teinte de la zone sensible. Pour faire passer cette teinte au violet, il expose la solution à l'air du laboratoire, qui agit par l'ammoniaque qu'il contient.

N'ayant jamais réussi à obtenir cette dernière réaction par le moyen qui vient d'être indiqué, il faut croire que l'air de mon laboratoire est beaucoup moins ammoniacal que celui du laboratoire où Le Dantec exécutait ses expériences (1). Je n'ai pas davantage constaté que l'eau dans

(1) C'est-à-dire à l'Institut Pasteur de Paris.

laquelle vivent les Protozoaires fût souvent alcaline. Cette alcalinité peut exister quand l'eau constitue une véritable infusion et renferme de nombreux débris de végétaux en décomposition, ou lorsqu'elle contient une abondante population de Protozoaires, ce qui va généralement de pair avec la première condition ; mais, hormis ces cas, le liquide est presque toujours d'une neutralité parfaite.

Voici comment je procède pour obtenir une solution d'alizarine d'un violet bien franc.

Je prépare d'abord dans un verre de montre une solution saturée d'alizarine dans l'eau distillée, et j'y verse goutte à goutte de l'ammoniaque jusqu'à ce qu'elle ait pris une belle couleur jus de groseille. Cette coloration ne se modifie plus quelle que soit la quantité d'alcali ajoutée. On peut donner à cette solution le nom de *solution mère*, car elle sert à la préparation de la liqueur qui doit être employée comme réactif. Il suffit pour cela de porter avec le bout d'une baguette de verre quelques gouttes de la solution mère dans un second verre de montre ou sur une lame de verre, et d'y ajouter de la même manière quelques gouttes d'eau de rivière ou d'eau de puits (1) pour voir le rouge de la solution virer à un violet franc. Cette liqueur violette ne doit pas être immédiatement employée comme réactif de la digestion intracellulaire, car elle contient une certaine quantité d'ammoniaque qui tuerait les animalcules qu'on mettrait en contact avec elle. Il faut la laisser à l'air jusqu'à ce qu'elle ait dégagé cette ammoniaque, ce qui a lieu au bout d'une ou 2 heures, si la quantité du liquide ne dépasse pas quelques centimètres cubes (2). On s'assure à l'aide du papier rougi de tournesol que l'ammoniaque a disparu. Un autre avantage de cette exposition à l'air est de provoquer,

---

(1) Si l'on employait de l'eau distillée, on ne ferait qu'étendre la solution sans la faire changer de couleur. La coloration violette que détermine l'eau ordinaire est due sans doute aux sels alcalins que contient celle-ci.

(2) Au bout du même temps, la solution mère abandonnée à l'air a dégagé aussi toute l'ammoniaque contenue ; dans ce cas, elle cesse de devenir violette par l'eau ordinaire, et a laissé déposer un abondant précipité de flocons rouges. L'addition de quelques gouttes d'ammoniaque suffit pour redissoudre ce précipité et donner au liquide ses propriétés premières. Pour éviter l'inconvénient résultant de la déperdition de l'ammoniaque, il faut conserver la solution mère dans un flacon bouché pour la mettre à l'abri de l'air ; elle peut être alors gardée pendant longtemps pour servir à la préparation du réactif violet.

à mesure que l'alcali se dégage, la précipitation de l'alizarine sous la forme de grumeaux ou de flocons composés de fines granulations et aiguilles violettes enchevêtrées, tandis que le liquide devient parfaitement clair et transparent. Ce précipité violet peut être conservé plusieurs jours avec le liquide qui le contient sans que sa couleur se modifie. Pour s'en servir, on puise à l'aide de la pipette une certaine quantité du dépôt violet, qu'on mêle à l'eau où vivent les Infusoires. Si ce sont des Paramécies, et c'est spécialement cette espèce que nous avons ici en vue, les grumeaux sont immédiatement absorbés et inclus dans des vacuoles alimentaires où ils prennent presque instantanément une vive coloration jaune orangé, qui contraste de la façon la plus nette avec la couleur violette des grumeaux extérieurs. Ce virage de l'alizarine ingérée du violet à l'orangé est une preuve indiscutable de la réaction acide du liquide contenu dans la vacuole, et démontre en même temps la forte acidité de ce liquide par le brusque passage du violet à l'orangé, sans passer par les teintes intermédiaires de la zone sensible. Cette rapidité de la réaction acide a été remarquée aussi par Le Dantec chez quelques Infusoires ciliés; elle varie d'une espèce à l'autre, mais aucun de ses chiffres n'approche, même de loin, de ce que j'ai observé dans mes expériences sur les Paramécies, car il indique une heure pour le *Paramœcium bursaria*, et un peu moins pour le *P. Aurelia*. Le minimum de temps lui a été présenté par le *Carchesium* (sp. ?), certaines Vorticelles (*V. convallaria*, *V. microstoma*), le *Coleps hirtus*, où le virage de l'alizarine violette au jaune exigeait encore environ une demi-heure et passait d'une façon plus ou moins évidente par les variations de teintes de la zone sensible.

Il est facile de s'assurer que le contenu jaune des vacuoles est bien formé par l'alizarine ingérée, car il suffit, comme l'indique Le Dantec, de déposer au bord du couvre-objet une goutte d'ammoniaque, qui fait virer aussitôt le contenu de la vacuole au violet (1).

(1) Je n'ai jamais réussi par contre à obtenir le changement de coloration en écrasant l'animal pour mettre l'alizarine des vacuoles en contact avec l'eau extérieure, comme le conseille aussi Le Dantec. J'ai déjà dit que je n'ai presque jamais observé l'alcalinité de l'eau où vivent les Infusoires et je donnerai plus loin une autre preuve de ce défaut d'alcalinité.

L'alizarine ne constitue pas un aliment pour les Infusoires; elle est simplement colorée et non dissoute par le liquide intravacuolaire. En effet, au bout d'un certain temps, tous les grumeaux jaunes que renfermaient les vacuoles sont expulsés par défécation, et on les retrouve dans le liquide extérieur sous la forme de petites boulettes granuleuses n'ayant subi aucune modification de couleur, même par un séjour prolongé dans ce liquide. Cette observation, qui prouve la parfaite neutralité de ce liquide dans toutes mes expériences de nutrition artificielle, est en contradiction avec les résultats de Le Dantec, qui a constaté au contraire l'alcalinité de ce liquide, manifestée par la coloration violette des grumeaux jaunes, après écrasement des animalcules.

J'ai remarqué encore un autre fait qui prouve que les Paramécies ne tardent pas à reconnaître que cette matière colorante ne jouit pas de propriétés nutritives : c'est qu'après en avoir absorbé une première fois, et comme par surprise, une grande quantité et l'avoir rejetée sans la digérer, elles se montrent ensuite beaucoup moins empressées à en avaler de nouvelles quantités; 24 heures après le premier repas, on n'en trouve plus qu'un petit nombre qui renferment encore des vacuoles contenant de l'alizarine; la préparation est en quelque sorte parsemée de leurs déjections, qui forment comme un piqueté jaune parmi les grumeaux violets que contient encore abondamment le liquide de la culture.

Nous devons prévenir ici une objection qui pourrait se présenter à l'esprit du lecteur. Il peut, en effet, se demander si le liquide intravacuolaire acide qui a déterminé le virage du violet au jaune des grumeaux d'alizarine ingérés représente bien un suc digestif proprement dit, et est identique avec celui qui agit sur les véritables aliments. D'après ses nombreuses expériences sur la digestion intracellulaire des Protozoaires, cette identité ne fait aucun doute pour M. Le Dantec, qui résume dans les propositions suivantes ses observations à cet égard : « Dans tous les cas, chez tous les Infusoires étudiés, la vacuole digestive est le siège d'une sécrétion acide qui neutralise d'abord l'alcalinité de l'eau ingérée, et qui continue quand la neu-

tralité est atteinte, de façon à donner au contenu de la vacuole une acidité effective. *Cette sécrétion acide se manifeste avec la même intensité dans les vacuoles contenant des matières solides, animales, végétales et minérales.* » (*Loc. cit.*, p. 300.)

« Une sécrétion acide a lieu dans la vacuole, que celle-ci contienne ou ne contienne pas de substances nutritives. » (P. 291.)

« L'acide semble le même pour toutes les espèces observées. » (P. 272.)

Enfin, Le Dantec a observé que les corps organiques, tels que les globules du lait, les grains d'amidon, de riz, qui restent inattaqués, les grains d'amidon de pomme de terre, qui sont au contraire plus ou moins complètement digérés (1), sont renfermés dans des vacuoles qui sont le siège de la sécrétion acide ordinaire.

Ces préliminaires établis, voyons maintenant comment se comportent, au point de vue de la digestion intracellulaire, les mérozoïtes des Paramécies qui ne contiennent pas de noyau.

J'ai déjà dit que, pour faire servir ces mérozoïtes à de semblables expériences, il fallait prendre ceux qui ont conservé la bouche complète de l'ancien individu, car, s'ils sont sans bouche ou n'ont qu'une bouche plus ou moins mutilée, ils sont incapables de prendre de la nourriture. Le plus souvent, il est presque impossible de reconnaître d'avance si ces fragments d'individus sont dépourvus de noyau, car ils peuvent ne renfermer qu'une très petite portion du noyau primitif très difficile à distinguer, en raison de sa transparence, sans le secours des réactifs, dont naturellement on ne peut pas faire usage ici. Après avoir isolé dans quelques gouttes d'eau ou d'infusion un ou plusieurs de ces fragments sur un porte-objet à cuvette, on y ajoute quelques grumeaux d'alizarine violette, qui sont presque aussi rapidement ingérés qu'ils le sont par les individus intacts. Parmi ces fragments, on reconnaît

(1) Avant Le Dantec, Meissner et Fabre-Domergue ont observé aussi une digestion plus ou moins parfaite des grains d'amidon de pomme de terre, constatable par la coloration rouge ou rose violacé qu'ils prennent en partie sous l'action de l'iode.

que la plupart renferment des vacuoles d'ingestion contenant des grumeaux jaunes comme chez les individus intacts. Plus rares sont ceux où l'alizarine est restée violette. On recouvre alors la préparation d'une lamelle mince, sous laquelle on aplatit légèrement les fragments par soustraction partielle de l'eau, ce qui permet quelquefois déjà de reconnaître les fragments avec ou sans noyau. Pour achever la démonstration, on dépose sur le bord de la préparation une goutte d'une solution d'acide osmique, qui n'a pas la propriété de modifier la couleur de l'alizarine violette, mais qui rend le noyau plus apparent lorsqu'il existe. A l'aide de ce procédé, j'ai pu constater que dans tous les fragments avec noyau qui contenaient de l'alizarine celle-ci avait pris la teinte orangée, caractéristique d'une sécrétion acide (II, *fig.* 40, *b*, *b*, *b*, *b*), tandis que dans les fragments sans noyau l'alizarine ingérée avait conservé sa coloration violette (*fig.* 40, *c'*). Cette observation ne laisse donc aucun doute sur l'influence que le noyau exerce sur la sécrétion acide des vacuoles alimentaires et corrobore les observations antérieures de Bruno Hofer et de Verworn relativement au rôle que le noyau joue dans la digestion des Protozoaires (1), rôle que, de mon côté, j'ai essayé de déduire de mes observations sur le Stentor, ainsi que je l'ai exposé dans la première partie de ce Mémoire. La constatation de cette influence du noyau sur la sécrétion est d'autant plus intéressante à noter que le noyau, ainsi que nous l'avons vu, est dépourvu, chez les Paramécies, de la faculté de régénérer les parties perdues, ou du moins ne les régénère que très lentement et seulement en cas de pertes de substances très minimes. Ce fait nous prouve que cet élément peut perdre telle de ses propriétés en conservant les autres parfaitement intactes.

---

(1) Voir dans la partie historique de ce travail (première partie) l'exposé des observations de Hofer et de Verworn.

Sur les anomalies de la multiplication par division chez les mérozoïtes des Paramécies

J'ai observé chez un certain nombre de mérozoïtes des Paramécies une curieuse anomalie de la multiplication par division, qui a pour résultat de modifier complètement le mode de reproduction propre de l'espèce. En effet, au lieu de se multiplier par divisions binaires successives donnant lieu à des rejetons qui deviennent indépendants les uns des autres, ces rejetons restent réunis en une sorte de formation coloniale ou cormus, plus ou moins irrégulière, souvent bizarre et compliquée, imitant d'une façon plus ou moins grossière les colonies qu'on observe chez quelques autres Protozoaires. Afin de mieux montrer comment se forment ces agrégations d'individus aux dépens d'un simple mérozoïte, je vais rapporter quelques cas particuliers qui se sont présentés à mon observation; je commencerai par les plus simples pour finir par les plus compliqués.

Expérience I. — Un mérozoïte postérieur, formé le 28 novembre aux dépens d'une Paramécie dont l'extrémité antérieure avait été obliquement tronquée, est resté jusqu'au 5 décembre dans un milieu de culture très appauvri où il ne s'est pas régénéré. Transporté à cette dernière date dans quelques gouttes d'une infusion de laitue contenant de nombreuses Bactéries qui lui servent d'aliment, je le trouve dès le lendemain en voie de division, mais les deux nouveaux individus ne présentent pas leur situation normale. Au lieu d'être placés l'un à la suite de l'autre, sur une même ligne longitudinale, ils forment entre eux un angle plus ou moins ouvert, dont le sommet correspond à leur point de réunion. Cette réunion a lieu encore par une large surface et ne correspond pas au milieu de l'ensemble formé par les deux corps, l'un d'eux étant un peu plus court que l'autre. Dans chaque individu, on distingue une bouche et deux vésicules contractiles; celles-ci dans leur situation normale, à la face dorsale, par laquelle les deux corps se

regardent; celle-là à la face opposée, dont elle occupe à peu près le milieu, et qui représente par conséquent la face ventrale de chaque rejeton.

Il est facile de voir par la situation relative de ces parties que les deux rejetons s'étaient d'abord formés, comme dans une division normale, dans le prolongement l'un de l'autre, par étranglement de l'individu primitif, et qu'ils ont ensuite exécuté autour du point de réunion un mouvement de bascule en arrière qui les a rapprochés par leur face dorsale. Dans cette situation, il eût suffi que l'étranglement du sommet de l'angle formé par les deux corps continuât à faire des progrès pour que ceux-ci devinssent libres et indépendants l'un de l'autre. Mais cet étranglement ne s'est pas produit; aucune modification n'est survenue dans cette partie pendant toute la journée du lendemain où je ne cessais pour ainsi dire pas d'observer le couple. Les deux individus, comme impatients de ne pas pouvoir se séparer, se livraient à une rotation vertigineuse, presque continue, autour d'un axe passant par le point de réunion. Je les trouvai morts le surlendemain, sans qu'ils eussent réussi à se séparer. Chacun d'eux renfermait un noyau dont je n'ai pu autrement apprécier la forme.

Expérience II (II, *fig.* 41). — Mérozoïte postérieur *A*, formé le 9 janvier, non régénéré le 10 et isolé le même jour dans un liquide nutritif contenant de nombreuses Monades qui sont avidement avalées par le fragment. Le 15, une première division binaire a lieu *B*. L'un des deux rejetons *B*, *a*, court et tronqué en avant, représente évidemment la partie antérieure du mérozoïte primitif; l'autre, normalement constitué, *p*, est formé par la partie postérieure de celui-ci. Tous deux continuent à se bien nourrir. Le 17, nouvelle division de *p* en deux individus normaux (1). Chez *a*, il y a eu également tendance à une division *C*, mais les deux rejetons n'ayant pu se séparer restent accolés latéralement dans toute leur moitié antérieure. Le 17, *C* est devenu une espèce de monstre triple par la formation d'un troisième individu adhérant à la partie

(1) Les descendants de cet individu *p* continuant à se multiplier normalement, nous n'avons pas à nous en occuper ici.

antérieure confondue des deux précédents par son extrémité antérieure, tout le reste du corps étant bien conformé *D, E*. De même que les deux autres, il présente une bouche bien visible, et est rempli de petites Monades avalées. Le 18, les trois sujets n'ont pas réussi à se séparer et sont encore à peu près dans le même état. A partir de ce jour, ils subissent divers changements de forme et de position, que j'ai essayé de reproduire dans les figures *F-H*. Le groupe qu'ils forment devient de plus en plus irrégulier et bizarre ; les deux premiers formés tendent à se confondre en un seul corps plissé et chiffonné, tandis que le troisième, demeuré plus indépendant, est fixé seulement par son extrémité antérieure aux deux autres ; lui-même présente un aspect plissé irrégulièrement comme ceux-ci. Ajoutons que, dès le début de la formation de ce groupe monstrueux, de nombreuses vacuoles ont apparu dans le plasma des trois sujets composants, entremêlées à des corpuscules d'excrétion en forme de courts bâtonnets foncés. Le 22, n'ayant remarqué aucune tendance à la formation de nouveaux individus, et le groupe paraissant sensiblement affaibli et près de mourir, je tiens à m'assurer de l'état des noyaux avant sa décomposition spontanée. Traité par la solution acétique de vert de méthyle, il se produit, sous l'influence de la contraction déterminée par le réactif, un reflux de l'endoplasme et du noyau du troisième individu dans l'espèce de poche formée par les deux autres, *I*. Ayant laissé aux noyaux le temps de se colorer, on constate alors dans la poche deux masses nucléaires principales, dont l'une *n*, placée en avant, est plus petite et arrondie, et dont l'autre *n'*, située plus en arrière, est composée de trois masses secondaires inégales, irrégulières, profondément sillonnées et mamelonnées ; la plus petite renferme une vacuole sphérique claire, munie d'un corpuscule central, semblable à un nucléole. Cette masse nucléaire postérieure représente les noyaux des deux premiers individus, confondus entièrement en un seul corps. Toute trace d'ingesta avait disparu dans les trois corps, qui, outre les noyaux, ne contenaient que les corpuscules excréteurs dont nous avons parlé plus haut.

Expérience III (II, *fig*. 42). — Mérozoïte postérieur *A*

formé le 24 juin et trouvé le 25 en voie de division anormale, comme les deux précédents. On voit par la figure que le plus petit des deux rejetons *B*, *a* est formé par la partie antérieure du mérozoïte, et le plus grand *p* par sa partie postérieure. Leur séparation n'a pas lieu, et chacun d'eux continue à se multiplier en place par division binaire *D*, ce qui ne tarde pas à donner lieu à la formation d'une espèce de monstre complexe, qui va se compliquant avec le nombre des individus auxquels les sujets composants donnent naissance, *E-G*. Ne pouvant s'isoler les uns des autres au fur et à mesure de leur formation, ils se gênent mutuellement dans leur accroissement ; des fusions se produisent entre parties contiguës et rendent de moins en moins distinctes les individualités composantes ; celles-ci se trahissent seulement, ici, par une extrémité antérieure ou postérieure, faisant plus ou moins saillie hors de la masse commune ; là, par une bouche, ailleurs par une vésicule contractile, dont les pulsations se font comme chez les individus normaux. Toutes ces bouches fonctionnent, car le plasma colonial est entièrement rempli de petites Monades avalées. De temps en temps, un rejeton, mieux placé pour son entier développement, se détache de la souche commune et devient libre, continuant à vivre et à se multiplier pour son compte. Cette singulière colonie s'accroît ainsi tant que la nutrition entretenue par les divers sujets composants reste active. Le 3 juillet, c'est-à-dire 10 jours depuis le début de sa formation, elle avait atteint une longueur de $0^{mm},46$. Comme toute sa surface est couverte de cils vibratiles, et qu'aucun arrangement régulier ne préside à leur distribution, ainsi que cela a lieu chez les colonies flottantes naturelles des Protozoaires, les mouvements déterminés par ces cils n'ont aucune direction fixe, et la masse tout entière se meut pour ainsi dire au hasard à travers le liquide, d'un mouvement tantôt plus lent, tantôt plus accéléré suivant le nombre des cils qui battent à l'unisson. Pour la même cause, lorsqu'un obstacle quelconque vient à en arrêter la marche, il s'ensuit un temps de repos plus ou moins prolongé avant que le mouvement reprenne.

Vers le huitième jour de l'existence de la colonie, la nutrition commença manifestement à se ralentir ; presque

tous les ingesta avaient disparu tandis que, au contraire, les corpuscules excrétoires se montrèrent partout en plus grande quantité en obscurcissant le plasma. Enfin, au matin du onzième jour, je ne pus la retrouver, ce qui me fit croire qu'elle s'était détruite par diffluence A mon grand regret, je ne pus faire aucune observation relativement au nombre et à la disposition des noyaux renfermés dans la masse formée par cet agrégat d'individus.

Expérience IV (II, *fig.* 43). — Mérozoïte postérieur formé le 18 janvier, trouvé le 24 en voie de division anormale, *A*. Il est alors placé dans un milieu nutritif riche. Rien de changé jusqu'au 29. Pendant tout ce temps, le couple exécute un mouvement de rotation vif et presque sans discontinuité autour d'un axe passant par le point d'attache des deux individus, comme pour essayer de rompre l'obstacle qui les maintient réunis sans pouvoir y parvenir. A cette dernière date, *B*, un troisième individu s'est formé aux dépens de l'individu *p*, qui représente la partie postérieure du mérozoïte primitif. On distingue chez chaque rejeton la bouche *bo* et une ou deux vésicules contractiles *vc*. Les deux corps renferment de nombreuses Monades avalées. Le 30 janvier, le système s'est encore compliqué par la formation de plusieurs nouveaux individus dont l'un se détache plus distinctement des autres confondus en une masse commune. Des saillies coniques plus ou moins nombreuses, qui s'élèvent sur divers points de cette masse, en compliquent encore l'aspect, *C*. A partir de ce moment, chaque jour amène une complexité nouvelle par la formation de nouveaux individus sur divers points de la masse commune, dont l'aspect devient de plus en plus irrégulier et bizarre, *D-F*. Ces nouveaux individus se manifestent par la multiplication des bouches et des vésicules contractiles, par la formation de prolongements coniques plus ou moins longs, sortant dans diverses directions de la masse commune et figurant les extrémités antérieures ou postérieures d'individus dont le reste du corps demeure enfoui dans cette masse. Sur certains points la colonie s'allonge sous forme de longues grappes d'individus difformes qu'elle traîne après elle en nageant. De ces grappes s'échappe parfois un rejeton bien conformé, qui abandonne la colonie et devient

libre dans le liquide, où il se multiplie d'une façon normale.

A mesure que la colonie s'accroît ainsi par la multiplication d'individus qui restent adhérents entre eux, il devient de plus en plus difficile de s'orienter au milieu de cette complication croissante de corps soudés et d'extrémités libres ; on dirait une réalisation microscopique de ces divinités indoues aux corps et aux membres multiples. Dans la masse commune confondue qui forme comme le centre de la colonie, on aperçoit des bouches et des vésicules contractiles éparses dont on ne distingue pas les propriétaires ; toutes ces bouches et vésicules contractiles sont en pleine activité, comme on le reconnaît aux contractions rythmiques des premières et aux nombreux *ingesta*, formés pour la plupart de petites Monades, qui remplissent la masse plasmique commune. S'il était possible de faire la numération exacte de toutes ces bouches et de toutes ces vésicules contractiles, on pourrait en déduire facilement le nombre des animalcules composant la colonie, mais un grand nombre d'entre elles sont cachées dans les plis multiples de la partie centrale, et l'on n'aperçoit distinctement que les bouches et les vésicules contractiles des individus placés aux extrémités des prolongements.

Ce ne sont pas seulement des individus isolés qui de temps à autre se détachent de la colonie et deviennent libres. Dans la journée du 1er février (la colonie avait alors une existence de 8 jours), toute la branche droite de celle-ci, F', s'est séparée du reste au point x, pour mener une existence indépendante dans le liquide ; malheureusement je n'ai pu en poursuivre longtemps l'observation, ce qui me fait croire qu'elle n'a pas tardé à se détruire.

Il en a été du reste de même de la partie principale de la colonie, qui n'a pas tardé à donner des signes de dépérissement. Désirant connaître l'état des noyaux, je me suis hâté de prévenir la destruction spontanée de la colonie en l'étudiant par l'emploi des réactifs. Le traitement par la solution acidulée de vert de méthyle a fait apparaître au milieu de la partie centrale une masse nucléaire volumineuse fortement colorée par le réactif G, n. Cette masse était composée d'un grand nombre de segments mamelonnés, inégaux et irréguliers, comme si elle était résultée de

nombreux noyaux pressés les uns contre les autres. A mon grand étonnement, aucun noyau n'était visible dans les parties formant les prolongements de la colonie, où l'on reconnaissait cependant des formes bien typiques de Paramécies.

Outre la masse nucléaire volumineuse dont il vient d'être question, on apercevait dans la partie antérieure de la colonie, à une certaine distance du noyau, un petit corps finement strié, plus faiblement coloré en vert que le noyau, et représentant probablement un micronucléus, *G*, *m*.

Pour compléter ces observations relatives au noyau, il me reste à mentionner l'examen que j'ai fait d'une Paramécie qui s'était détachée la veille de la masse coloniale et qui avait été isolée dans un liquide nutritif. Cette Paramécie, de petite taille, mais d'un aspect parfaitement normal *H*, ne présentait aucune trace du gros noyau ordinaire de l'espèce, si facile à mettre en évidence par la solution acétique de vert de méthyle ; on y constatait seulement un petit corps ovalaire strié *m*, légèrement coloré en vert, d'un aspect semblable à celui du corps *m* de la masse principale, et ayant probablement, comme ce dernier, la signification d'un micronucléus.

Je n'ai pas besoin de faire ressortir l'importance que présentent, au point de vue de la physiologie cellulaire, les détails que nous venons de faire connaître au sujet du noyau de notre colonie de Paramécies. Il résulte de notre description que celle-ci ne renfermait qu'une grosse masse nucléaire centrale, lobulée et mamelonnée, et qu'il n'existait aucun noyau dans les individus plus ou moins reconnaissables placés à la périphérie de la colonie ; et, pour corroborer cette dernière observation, nous avons constaté aussi l'absence d'un noyau chez l'individu libre *H*, détaché de la colonie. S'il n'y a pas eu d'erreur matérielle dans ces observations, il faut en tirer cette conclusion qu'au fur et à mesure que le nombre des individus de la colonie a augmenté par division binaire des individus préexistants, le noyau n'a pas pris part à cette division pour constituer un noyau particulier à chaque individu nouvellement formé, mais que la masse totale de la substance nucléaire a simplement augmenté dans la par-

tie centrale de la colonie avec le nombre des individus ainsi formés. Il s'est produit, pour ainsi dire, un seul noyau colonial, jouant à l'égard de celle-ci le même rôle que le noyau d'un individu ordinaire simple par rapport à ce dernier. Si cette manière de voir, présentée ici comme une simple hypothèse, est exacte, il faut admettre que la masse nucléaire centrale peut exercer à distance une action formative sur les parties périphériques de la colonie.

Quant au fait que, par suite de la concentration du noyau dans la partie centrale de la masse coloniale, les rejetons qui se forment aux extrémités sont privés d'un noyau propre, soit qu'ils continuent à faire partie de la colonie, soit qu'ils se séparent de celle-ci pour devenir indépendants, il ne faut pas perdre de vue que les phénomènes que nous décrivons ici ne rentrent pas dans l'ordre physiologique, mais constituent des anomalies incompatibles avec la perpétuation de l'espèce. S'ils devaient se présenter souvent dans la nature au lieu d'être le résultat d'une expérience, ils ne tarderaient pas à produire la dégénérescence de l'espèce, puisqu'ils peuvent amener la perte d'un élément aussi important pour la vie cellulaire que l'est le noyau.

J'ai rapporté plus haut des expériences qui prouvent que le noyau exerce une influence indubitable sur la sécrétion du liquide digestif chez les Paramécies. On peut se demander si, en raison de la position centrale du noyau dans notre colonie de Paramécies, cette action s'exerce encore à l'égard des individus périphériques privés d'un noyau particulier. Pour résoudre cette question, j'avais voulu faire ingérer de l'alizarine violette à ces individus coloniaux; mais, n'osant pas les mettre en contact avec ce réactif, en raison de la proportion même très minime d'ammoniaque qu'il pouvait encore renfermer, avant de m'être assuré si une autre matière colorante avait chance d'être absorbée par ces individus, je mêlai à leur eau une petite quantité de carmin en poudre, que je jugeai plus inoffensif, et qui, en effet, comme on sait, n'exerce point d'effet délétère sur les Protozoaires auxquels on le fait ingérer. A ma grande surprise, je vis le plasma colonial, à peine en contact avec le carmin, commencer à présenter des signes d'altération, se gonfler et des gouttelettes de

sarcode apparaître à sa surface, pendant que les mouvements vibratoires des cils devenaient de plus en plus lents. La destruction eût été complète si j'avais laissé notre organisme exposé plus longtemps à cette action délétère du carmin. Ce résultat ne me parut pas assez encourageant pour me décider à faire des essais avec l'alizarine, et la question que je voulais élucider demeura ainsi indécise. Je crois néanmoins que notre colonie devait à la longue souffrir dans sa nutrition, car, si l'on observait d'abord des vacuoles alimentaires dans toutes les parties du plasma commun, dès le huitième jour, presque toutes ces vacuoles avaient disparu, quoique le liquide ambiant fourmillât encore des petites Monades qui servaient de nourriture ; des vacuoles aqueuses apparurent partout en grand nombre à leur place, comme dans les mérozoïtes privés de noyau, où elles annoncent la dégénérescence imminente du plasma.

Il nous reste à examiner une dernière question : c'est celle de la *cause* qui donne lieu à cette anomalie de la reproduction fissipare, produisant un agrégat d'individus au lieu d'individus indépendants et isolés. Il est d'abord à peine nécessaire de faire remarquer qu'en dehors des faits de mérotomie on n'a jamais observé ce trouble des fonctions reproductrices, dont aucun auteur n'a encore fait mention chez une espèce quelconque de Protozoaire. Je ne l'ai moi-même jamais observé dans aucune autre circonstance, soit chez les Paramécies, soit chez toute autre espèce.

Gruber a bien réussi, dans ses intéressantes expériences de division artificielle chez les Protozoaires, à provoquer, chez le Stentor, la formation de deux individus aux dépens d'un seul par une division longitudinale incomplète du corps (1). Chez la même espèce, je suis parvenu, de mon côté, à transformer un même individu en une sorte de monstre double par une lésion portant à la fois sur le plasma et le noyau (2). Mais dans ces cas il s'est agi

(1) Gruber, Beiträge zur Kenntniss der Physiologie und Biologie der Protozoen, *Berichte der naturforsch. Ges. zu Freiburg i. B.*, t. I, 1886.

(2) Balbiani, Sur la formation des monstres doubles chez les Infusoires. *Journal de l'anatomie et de la physiologie*, t. XXVII, p. 169, 1891

d'un simple phénomène de régénération des parties divisées et non d'une reproduction proprement dite, comme chez nos Paramécies mérotomisées. Chez ces dernières, en effet, la multiplication par divisions binaires successives continue à se faire comme chez les individus ordinaires, avec cette différence que les produits de division, au lieu de devenir indépendants, au fur et à mesure de leur formation, restent en connexion les uns avec les autres, se fusionnent entre eux plus ou moins complètement et constituent une sorte de colonie informe dont les divers individus peuvent affecter les groupements les plus divers.

Il n'est pas douteux que ce qui empêche les rejetons d'un même individu mère de se séparer l'un de l'autre est un affaiblissement de la reproduction fissipare ou, en d'autres termes, de la faculté de divisibilité de la cellule qui empêche celle-ci de parcourir les derniers stades de la division destinés à amener la séparation complète des deux cellules filles. Nous ne voyons comme cause de cet affaiblissement que le traumatisme subi par la cellule mère. Ce traumatisme peut en effet agir soit sur le plasma, par la diminution que celui-ci a éprouvée dans sa masse, soit sur le noyau pour une raison analogue, soit sur l'un et l'autre à la fois. J'incline à attribuer au noyau la plus grande part dans cette influence par ce fait que ce sont toujours les individus qui ont été mutilés à leur partie antérieure dont la descendance a donné lieu à ces formations anormales, tandis que ceux chez lesquels la perte de substance a eu lieu à la partie postérieure se sont toujours multipliés d'une façon normale par fissiparité, ainsi que j'en ai rapporté plusieurs exemples plus haut. Or cette différence s'explique par la situation du noyau, qui est plus rapproché de la partie antérieure que de la partie postérieure chez les Paramécies, et se trouve par suite plus facilement atteint par les lésions de la partie antérieure. Comme il s'en faut du reste de beaucoup que tous les individus porteurs de ces dernières lésions présentent le mode de reproduction anormal dont nous parlons, que la plupart se multiplient au contraire d'une façon parfaitement normale par division, tandis qu'un nombre relativement petit seulement présentent un trouble dans leurs fonctions reproductrices, il

faut admettre que le noyau n'est pas toujours intéressé dans ces lésions, ou ne l'est pas assez pour donner lieu à un trouble de ce genre.

Si nous ne nous sommes pas trompé dans notre hypothèse en attribuant au noyau une influence sur cette altération de la reproduction fissipare, le trouble physiologique éprouvé par le noyau ne peut être que le résultat d'une sorte de paralysie qui l'empêche de prendre part à la division du plasma cellulaire, ce qui équivaut au point de vue physiologique à sa suppression totale.

Cette présomption acquiert beaucoup de vraisemblance, d'abord par ce fait que le noyau manque chez les individus périphériques des colonies de Paramécies, puis par le rapprochement avec les faits que nous avons fait connaître précédemment en exposant nos observations sur les Stentors mérotomisés à l'état de reproduction fissipare. Nous avons vu en effet qu'en profitant du stade où le noyau en chapelet de ces Ciliés se trouve contracté sous forme d'une boule au centre du corps, pour séparer de celui-ci un fragment sans noyau, ce fragment ne s'en divisait pas moins, comme s'il faisait encore partie de l'individu intact, mais que cette division ne se parachevait point, que les deux segments se réunissaient de nouveau d'une manière plus ou moins intime en une masse commune. Nous en avons tiré cette conclusion que l'impulsion à la division cellulaire partait du plasma, mais que le noyau était nécessaire pour soutenir la division et la conduire jusqu'au bout, c'est-à-dire jusqu'à la séparation complète des deux cellules filles.

Je n'ai pas besoin d'insister beaucoup pour faire ressortir l'analogie que présentent ces observations avec celles que nous avons faites chez les Paramécies. Dans les deux cas, c'est-à-dire chez les mérozoïtes des Stentors comme dans les agrégats coloniaux des Paramécies, la division incomplète résulte de l'absence de noyau, au moins chez les individus placés à la périphérie de ces agrégats. Nous avons vu cependant que quelques-uns de ces derniers pouvaient devenir libres en se séparant de la colonie. Ces exceptions, nous les avons constatées aussi chez les Stentors, où, malgré l'absence du noyau dans le

mérozoïte, celui-ci pouvait, dans certains cas, se diviser en deux individus distincts, bien qu'incomplètement développés.

Un autre genre d'anomalie que nous ont présenté parfois les mérozoïtes nucléés des Paramécies consistait dans la formation de prolongements plus ou moins considérables apparaissant à la surface du corps. Ces prolongements siègent presque toujours, au début, à la partie antérieure du mérozoïte, implantés tantôt au bord de la troncature, tantôt à une petite distance en arrière de celle-ci, car c'est toujours sur des Paramécies sectionnées en avant que je les ai observés. Ils se présentent sous la forme d'appendices coniques, fusiformes ou cylindriques, plus ou moins longs, droits ou recourbés en divers sens (II, *fig.* 44, *E*). Ils sont formés par l'ectoplasme et une mince couche d'endoplasme, et revêtus à leur surface de cils vibratiles semblables à ceux qui couvrent le reste du corps. La présence de ces appendices n'empêche pas les mérozoïtes de se multiplier par division, lorsqu'on les place dans de bonnes conditions de nutrition, comme je l'ai décrit en rapportant plus haut mes observations sur cette division. L'étranglement du corps ayant lieu au même niveau que chez les individus intacts, il en résulte que le rejeton antérieur est toujours plus ou moins court que le postérieur *B* — *E*. C'est à ce rejeton antérieur que se transmet à chaque nouvelle division l'appendice avec la troncature de l'individu mère, tandis que les rejetons postérieurs ont toujours une taille et une forme normales. Je l'ai vu se transmettre ainsi jusqu'à sept rejetons antérieurs successifs *E* — *K*. Au septième, placé d'abord vers le pôle antérieur *K*, il recula graduellement, pendant la durée de la vie de ce rejeton, vers le pôle postérieur, et finit par être situé sur un point diamétralement opposé à celui qu'il occupait au début, *L*, *M*, *N*. Sa longueur était alors de $0^{mm},08$, celle du rejeton qui le portait étant de $0^{mm},26$; il s'élevait à la partie postérieure de la face dorsale du corps, avec laquelle il formait un angle de 45°, et regardait en avant et en dehors ; sa forme, d'abord allongée et conique, était devenue presque uniformément cylindrique. L'observation cessa avec la mort spontanée de ce septième rejeton.

Le transport graduel de l'appendice d'avant en arrière ne peut avoir pour cause que l'accroissement en longueur que le rejeton subit depuis le moment de sa formation jusqu'à celui où il se divise à son tour. La première apparition de l'appendice n'a pas toujours lieu d'emblée sur le mérozoïte par lequel a débuté l'observation ; assez souvent, c'est seulement sur une des premières générations issues de celui-ci que cet appendice se montre pour la première fois. Dans l'exemple que nous avons cité plus haut, c'était chez le troisième rejeton antérieur, E, a^3, et il s'est transmis en 7 jours de ce troisième rejeton au septième, K, a^7, où il finit par se placer tout à fait à l'extrémité postérieure du corps, L, M, N, a^7.

Ces déformations des mérozoïtes des Paramécies ne sont pas sans analogie avec celles que nous avons observées chez les mérozoïtes d'autres Ciliés, les Stentors, le *Loxodes rostrum ;* mais, tandis que chez ces derniers elles disparaissent graduellement pour faire place à une forme parfaitement normale, à mesure que la régénération de ces mérozoïtes en individus complets fait des progrès, chez les Paramécies, au contraire, les déformations non seulement persistent et s'accentuent même davantage, mais se transmettent à un plus ou moins grand nombre de descendants issus les uns des autres par voie de division binaire. Cette différence n'est évidemment que la conséquence de la non-régénération des fragments chez les Paramécies. Malgré la présence du noyau que ces fragments renferment, ils se comportent, à ce point de vue, comme les fragments non nucléés des autres Ciliés. Nous avons vu en effet que chez ces derniers les déformations du corps persistent ou s'exagèrent même jusqu'au moment de la mort.

Après avoir constaté chez le *Paramæcium Aurelia* les faits que nous venons d'exposer dans les pages précédentes, il était intéressant d'examiner si on les retrouverait également dans les autres espèces de ce genre et les genres voisins. Je n'ai encore fait, à cet égard, qu'un petit nombre d'observations chez le *P. bursaria* et le *Colpidium* (*Paramæcium*) *colpoda*. Eu égard à la petite taille de ces espèces, taille encore plus exiguë, chez la dernière surtout, que celle du *P. Aurelia*, il ne faut pas songer à pra-

tiquer sur elles des sections individuelles, mais employer le *hachage en masse*, comme je l'ai décrit pour ce dernier. On obtient ainsi des fragments d'individus coupés à l'une ou l'autre extrémité, ou vers le milieu. Chez les deux espèces, la surface coupée reste très nette et anguleuse sur ses bords pendant plusieurs heures après la section, mais elle s'arrondit plus rapidement et d'une façon plus marquée chez *P. bursaria* que chez *Colpidium*, et prend chez le premier une forme assez rapprochée de la forme normale pour qu'on soit embarrassé de dire s'il s'agit d'une simple rétraction des bords de la plaie ou d'une régénération proprement dite. Cependant certains fragments m'ont paru manifestement non régénérés 2 et même 3 jours après la section.

Chez le *Colpidium*, l'apparence était généralement encore, 3 et 4 jours après, la même qu'au moment où la section venait d'être faite. Passé ce délai, il devenait de plus en plus difficile de distinguer dans la foule des individus composant une culture de l'espèce ceux qui avaient été coupés de ceux restés intacts. De ces observations, encore peu nombreuses et incomplètes, je ne crois pas pouvoir conclure à une identité complète des phénomènes avec ceux du *P. Aurelia ;* il m'a semblé seulement que les espèces citées offraient une certaine résistance à la régénération, si elle n'était pas poussée aussi loin que chez cette dernière espèce.

RÉSUMÉ DES PRINCIPAUX FAITS CONCERNANT LA MÉROTOMIE DU *PARAMÆCIUM AURELIA*

1° Le *Paramæcium Aurelia* constitue une exception remarquable à la propriété générale que possèdent les Protozoaires de régénérer les parties qu'ils ont perdues sous l'influence d'une impulsion partie du noyau. Les individus mutilés peuvent vivre encore un mois et au delà sans présenter aucune trace de régénération ;

2° Les vésicules contractiles sont les seules parties qui

se régénèrent, mais cette régénération ne constitue, pas plus que chez les autres Ciliés, une néoformation organique ;

3° C'est seulement lorsque la perte de substance est légère, comme l'est la section d'une petite partie d'une des extrémités du corps, qu'elle peut se réparer dans la série des générations subséquentes produites par fissiparité, si le mérozoïte est placé dans un milieu riche en principes nutritifs. Dans ces conditions, la régénération du pôle postérieur a lieu plus rapidement et plus complètement que celle du pôle antérieur ;

4° Les fragments sans noyau ne se régénèrent, à plus forte raison, pas plus que ceux qui renferment un noyau ; ils disparaissent dans les cultures beaucoup plus rapidement que les fragments nucléés non régénérés ;

5° En faisant ingérer aux fragments sans noyau de l'alizarine sulfoconjuguée violette, cette matière colorante ne subit pas dans l'intérieur des vacuoles d'ingestion un virage au rouge ou à l'orangé, indice d'une sécrétion acide dans ces vacuoles, ainsi qu'on l'observe chez les Paramécies intactes et les fragments contenant un noyau. On doit en conclure que le noyau tient sous sa dépendance la sécrétion acide des vacuoles et probablement aussi celle des autres sucs digestifs ;

6° L'observation précédente prouve que le noyau peut perdre une de ses propriétés (celle de la régénération) en conservant les autres (sécrétion, etc.) ;

7° On observe parfois pendant la multiplication par division des mérozoïtes une anomalie consistant en ce que les produits de la division, au lieu de devenir libres à chaque génération, restent réunis entre eux et constituent une sorte de colonie, qui prend une forme plus ou moins irrégulière et bizarre, par suite des coalescences qui s'établissent entre les individus composants. Pendant la multiplication de ceux-ci, leurs noyaux, du moins à partir d'un certain stade de la formation coloniale, restent réunis au centre de la colonie sous forme d'une masse volumineuse mamelonnée. Cette masse, qui représente sans doute une sorte de noyau colonial, remplace physiologiquement les noyaux individuels absents chez les rejetons périphériques de la colonie.

Cette anomalie de la reproduction fissipare a pour cause

la suppression des derniers stades de la division destinés à mettre en liberté les deux rejetons, et cette suppression est probablement elle-même le résultat d'une lésion du noyau de l'individu mérotomisé ; on ne l'observe, en effet, jamais que chez les Paramécies qui ont subi une mutilation de leur partie antérieure où siège le noyau ;

8° Outre cette anomalie de la reproduction, on observe quelquefois chez les mérozoïtes des Paramécies une déformation consistant dans la production d'un prolongement plus ou moins considérable, de forme variée, siégeant au bord de la plaie ou dans le voisinage de celle-ci. Ces prolongements sont constitués par les diverses couches du plasma et sont revêtus de cils vibratiles. Ils apparaissent tantôt d'emblée sur le mérozoïte, tantôt sur l'un des premiers rejetons antérieurs de celui-ci, et se transmettent à tous les rejetons antérieurs des générations subséquentes, en modifiant parfois leur forme et leur siège ; ils ne disparaissent point comme les déformations analogues qu'on observe quelquefois sur les mérozoïtes nucléés des autres Ciliés, lorsque ceux-ci se sont régénérés. Cette différence tient à la faible puissance régénératrice des Paramécies ;

9° Chez le *Paramæcium bursaria* et le genre voisin *Colpidium*, la régénération des parties supprimées paraît se faire aussi d'une façon lente et incomplète, mais la résistance à la régénération ne paraît pas exister au même degré que chez le *Paramæcium Aurelia*.

(*A suivre.*)

DE LA PRÉSENCE D'UN MICROORGANISME
DANS
LE SANG, LES CRACHATS ET LES URINES DES MALADES ATTEINTS DE *TYPHUS EXANTHÉMATIQUE*

PAR

Le Dr ÉMILE CALMETTE, médecin-major de 1re classe

I. — Études sur le sang

Dans une note que les *Annales de l'Institut Pasteur* ont insérée récemment (n° 1, 1892), nous relations, M. le Dr Thoinot et moi, la présence dans le sang des typhiques de l'Ile-Tudy, de granules mobiles et d'éléments spirilliformes qui nous paraissaient de nature parasitaire. Mais nous n'avions pu ni isoler ni cultiver ces microorganismes, et nous hésitions sur la valeur à leur attribuer au point de vue microbiologique.

Je viens apporter une contribution aux études nécessaires pour résoudre cette question. J'ai pu, en effet, observer à plusieurs reprises, dans une période comprise entre le 6 août et le 20 décembre 1891, six malades atteints du typhus exanthématique; deux de ces malades appartenaient à l'armée (1).

Le sang de ces malades a été examiné à l'état frais et sur lamelles colorées; enfin les organismes qu'il renferme ont pu être isolés et cultivés.

A. *Sang à l'état frais* (*fig.* 1). — Si l'on examine du sang retiré fraîchement et avec les précautions de rigueur,

---

(1) Ces recherches ont été faites dans le laboratoire de l'asile Saint-Athanase à Quimper; je remercie M. le Dr d'Homery, directeur de cet établissement de sa cordiale hospitalité.

de la rate d'un typhique, on est tout d'abord frappé de la grande quantité de leucocytes qu'il renferme. Ce fait a été observé déjà par Russel (de Glasgow), et j'y insisterai tout à l'heure. Mais, si l'on a soin de disposer le sang, en couche mince et sans forte pression, sur une lamelle, on voit, à l'aide d'un grossissement de 800 à 1,000 diamètres, une infinité de granulations mobiles de 2 ou 3 μ de diamètre : ces granulations affectent une forme sphérique et sont quelquefois accompagnées d'un prolongement filiforme de 4 ou 5 μ de longueur, terminé par un corps arrondi de 1 μ de diamètre. A côté de ces granulations, mais plus clairsemés, se rencontrent des éléments filamenteux, spirillaires, de 20 à 30 μ de longueur et de 1 à 2 μ d'épaisseur, très mobiles et pourvus sur leur trajet de deux ou trois renflements réfringents. Ces éléments affectent des mouvements variés, tantôt de reptation, tantôt d'oscillation, tantôt de simple ondulation ; ils paraissent souvent fixés à des globules rouges, d'autres fois à des leucocytes ; plusieurs sont libres dans le liquide et rappellent les flagella de l'hématozoaire de Laveran, lorsqu'ils sont de petite dimension ; les plus longs présentent plutôt l'apparence des spirochètes de la fièvre récurrente, décrits par Obermaïer.

Dans le sang examiné après piqûres du doigt, on rencontre également les mêmes éléments, mais en moins grande quantité que dans celui retiré de la rate.

(*Fig.* 2.) — Si l'on étudie au microscope du sang retiré depuis plusieurs heures et ayant séjourné dans une pipette rigoureusement stérilisée, on observe des éléments spirillaires à forme très longue, pouvant atteindre 70 à 80 μ, présentant une ou deux spores bien distinctes du corps du filament.

Enfin, il n'est pas rare de rencontrer, dans les préparations de sang, des corps plus épais, à double contour, grossièrement sinueux, englobés dans des débris de protoplasma leucocytique : ce sont les formes dégénérées des éléments spirillaires.

En résumé, les microorganismes observés dans le sang des typhiques peuvent être ramenés aux quatre formes suivantes :

(*Fig.* 3.) — 1° La forme sphérique granuleuse, présen-

tant quelquefois un prolongement très court et rappelant les globulins ou hématies naines d'Hayem;

2° La forme spirillaire, présentant une ou deux sporules dans son trajet, forme tantôt libre, tantôt accolée aux globules et aux leucocytes;

3° La forme parfaite, présentant de grosses spores à maturité et offrant une longueur pouvant atteindre 70 à 80 μ;

4° La forme dégénérée, provenant de la destruction et de l'émiettement des premières.

L'examen sous lamelle sans coloration avec l'objectif 8 et l'oculaire 2 de Vérick permet de suivre les mouvements de ces singuliers éléments avec netteté. J'ai pu montrer ces derniers à tous les confrères qui ont bien voulu s'intéresser à ces recherches.

B. *Sang desséché et coloré sur lamelle.* — La coloration des microorganismes du sang typhique présente de grandes difficultés.

Voici les procédés auxquels on peut avoir recours : Après fixation du sang sur lamelle à l'aide d'alcool et d'éther, parties égales, on colore à l'éosine, puis au bleu de méthylène comme pour le sang paludique.

Une autre méthode consiste à employer, comme le fait Hochsinger (de Vienne), une solution composée de 100 centimètres cubes de bleu de méthyle (*solution aqueuse concentrée*) et de 1/2 centimètre cube d'éosine à l'eau. On filtre ce mélange après l'avoir fait bouillir légèrement, puis on plonge les lamelles à colorer dans le bain colorant encore tiède, et on retire au bout d'une demi-heure ; on lave à l'eau. Les spirilles sont colorés en bleu foncé, les globules en blanc ou bleu pâle, et les globules sanguins en rouge vif.

Ils sont aussi facilement colorés par la fuchsine boriquée (liquide de Lubimoff) mélangée à l'éosine : 1/3 d'éosine pour 2/3 de fuchsine. Enfin, il est un procédé qui nous a réussi en dernier lieu: c'est celui qui consiste à fixer le sang à l'aide de l'acide osmique en solution à 0,50 p. 100, puis à colorer pendant 10 minutes dans une solution peu étendue de liqueur de Ziehl.

C. *Isolement et culture des microorganismes.* — Ainsi

qu'on l'a vu par la note insérée dans les *Annales Pasteur* de janvier 1892, le sang ensemencé dans les milieux ordinaires, tels que bouillon alcalin, sérum, gélatine, gélose et pomme de terre, n'a donné lieu à aucune végétation microbienne. Les injections sous-cutanées, intra-veineuses et intra-péritonéales de ce même sang aux animaux (cobayes, lapins) sont restées sans résultat.

Les milieux acides ou sucrés m'ont paru, au contraire, convenir admirablement à la culture des microorganismes observés dans le sang.

Si l'on vient à recueillir une goutte de sang de typhique dans un tube à essai contenant 5 centimètres cubes de liquide Raulin et à mettre ce tube à l'étuve à 37° c., on constate au bout d'un laps de temps, qui varie de 6 à 8 jours, un léger trouble dans le liquide, puis l'apparition de légers flocons blanchâtres, lesquels, examinés sous une lamelle sans coloration, présentent les particularités suivantes : au milieu de débris de globules sanguins, on voit des filaments protoplasmiques d'apparence spirillaire, déformés, mais parfaitement reconnaissables.

De plus, on constate la présence d'une quantité notable de corpuscules sphériques avec noyau réfringent, véritables spores issues des spirilles et ayant la plus grande ressemblance avec les levures. Elles grandissent rapidement, et leur ensemencement sur pomme de terre donne une culture spéciale offrant l'aspect d'un semis de grains sphériques de 2 millimètres de diamètre et d'un beau rouge vermillon. Ces grains examinés au microscope sont composés exclusivement de spores-levures.

L'ensemencement de sang dans le bouillon de veau acidifié avec quelques gouttes d'acide lactique ou tartrique donne lieu aux mêmes productions de spores-levures ; si l'on vient à reporter cette culture de spores sur pomme de terre, on observe également la même végétation rouge vermillon, sauf toutefois pour la culture dans le bouillon tartrique qui présente un aspect gris mamelonné (1).

Les cultures dans milieux acides n'offrent plus (du 12e

---

(1) M. le Dr Gaube, médecin-major à Lorient, a vérifié ce fait à l'aide du sang pris sur un militaire atteint de typhus exanthématique dans son régiment.

au 15e jour) la moindre trace d'éléments spirillaires; mais, si l'on vient à les porter sur pomme de terre, les éléments spirillaires reparaissent; il semble que la spore-levure présente une forme végétante spéciale (en promycelium) en passant d'un milieu acide dans un milieu neutre.

Cette considération est corroborée par le fait suivant : Si l'on reporte la culture rouge obtenue sur pomme de terre dans un milieu riche en albumine et alcalin, tel que le liquide d'ascite stérilisé et mis à l'étuve à 25° pendant 8 jours, on constate une production abondante de formes spirillaires ressemblant *absolument* aux formes observées dans le sang des typhiques.

La technique dont je me suis servi pour fixer et colorer sur lamelles les spirilles provenant des cultures sur pomme de terre et sur milieu ascitique est la même que celle employée pour le sang : une parcelle de culture est écrasée sur la lamelle, séchée et mise en contact pendant une heure avec une solution d'acide osmique à 0,50 p. 100, puis colorée pendant 10 minutes dans le liquide de Ziehl. Tous les éléments ressortent en rouge vif ; à un grossissement de 13 à 1,500 diamètres, on voit que les filaments spirillaires sont constitués par un protoplasma strepto-bacilliforme qui rappelle la constitution des tubes d'algues ou de champignons inférieurs. Le filament se termine quelquefois par une sporule de 1 à 2 μ de diamètre. Les spores-levures prennent le *Gram* avec facilité, mais les filaments ne se colorent qu'à l'aide du liquide de Ziehl avec imprégnation préalable par l'acide osmique (*fig*. 4).

D. *Inoculation aux animaux.* — J'ai pratiqué *chez* dix lapins, dont un dératé au préalable, des injections intra-péritonéales et intra-trachéales de spores-levures en culture pure, et j'ai pu constater, 5 jours après l'injection, la présence d'éléments spirillaires nombreux dans le sang à l'état frais ; mais aucun de ces animaux n'est devenu malade. Ces expériences seront exposées ultérieurement ; elles sont comparables à celles que l'on trouvera dans les études sur les crachats et les urines.

II. — Études sur les crachats

Les symptômes présentés par les malades atteints du typhus exanthématique au début et dans le cours de cette affection ont été minutieusement décrits et catégorisés par les divers épidémiologistes : mais les signes qui m'ont le plus frappé, et sur lesquels les auteurs se sont étendus avec insistance, sont ceux relatifs à l'irritation des premières voies digestives et aériennes. Chez tous les typhiques, en effet, et particulièrement sur ceux que j'ai traités dans les salles militaires, que remarque-t-on tout d'abord ? Une langue blanche, pâteuse, amère, la muqueuse des joues humide, rouge, recouverte quelquefois d'un exsudat d'apparence pultacée ; les gencives chaudes et tuméfiées, un besoin continuel de cracher, une expectoration muqueuse, épaisse, légèrement grisâtre, enfin une haleine caractéristique, que l'on a comparée à celle des plantes vireuses. La fonction de l'odorat est diminuée, sinon annulée ; le mucus nasal est épais et visqueux ; le fond de la gorge est injecté, le larynx et les cordes vocales congestionnés. La dysphagie est fréquente ; les vomissements ou les nausées se manifestent souvent pendant les premiers jours. Puis, à la seconde période, la langue se fendille ; elle devient brune, croûteuse ; les amygdales, les piliers du voile du palais se couvrent de fuliginosités visqueuses ; la sécheresse de la muqueuse pituitaire est absolue. Enfin, la convalescence s'affirme par une desquamation abondante des épithéliums buccaux, une véritable crise salivaire avec expectoration de matières filantes qui dégage l'arrière-gorge, le larynx, les fosses nasales, et permet le retour de la voix, de l'ouïe et de l'odorat, toujours compromis pendant la période d'état du typhus. Tels sont les phénomènes que l'on observe du côté de la première portion des voix aériennes et digestives. Du côté de l'intestin, au contraire, on constate chez les malades une absence complète de réaction : la constipation est constante, le ventre indolent, paresseux et comme étranger à ce qui se passe dans l'économie.

Cette opposition, au point de vue pathologique, de deux parties d'un même appareil m'a suggéré l'idée d'étudier, chez les malades, les produits de l'expectoration.

Je me suis demandé aussi si l'élimination des éléments spirillaires constatés dans le sang ne se faisait pas par les glandes salivaires ou par les muqueuses buccale et pharyngienne ; on sait, en effet, que des parotidites ont été observées dans plusieurs épidémies de typhus, et que l'infectieux typhique a été attribué à un élément transportable par l'air et devant se fixer dans les premières voies aériennes.

Depuis le 6 août, jour de l'entrée, dans les salles de l'hospice de Quimper, de deux militaires ayant contracté le typhus à l'Ile-Tudy, je me suis attaché à examiner quotidiennement au microscope, avec ou sans coloration, les produits de l'expectoration; j'ai été aidé dans cette étude, ainsi que dans les expériences qu'elle m'a suggérées, par M. Ménéreul, interne à l'asile Saint-Athanase. Un troisième malade, venant de la garnison, a été atteint de la même affection le 20 septembre et est mort le 19 octobre. Enfin, j'ai observé six nouveaux cas de typhus à l'Ile-Tudy et à Quimper, en décembre, de sorte que mes études ont pu se continuer, presque sans interruption, pendant les cinq derniers mois de l'année 1891.

La réaction des liquides buccaux a été franchement acide pendant toute la durée de la maladie; les crachats ont toujours été visqueux, peu aérés, *adhérant* fortement au vase et contenant une grande quantité de débris épithéliaux. Mais le fait qui a attiré plus spécialement mon attention et qui s'est manifesté dans tous les cas a consisté dans la présence, au milieu du mucus, d'éléments ovoïdes, en forme de levures et d'une abondance extraordinaire.

J'ai cherché à isoler ces spores-levures en ensemençant une parcelle de crachats fraîchement recueillis dans différents milieux, et voici les résultats auxquels je suis arrivé : La gélatine et la gélose ont donné diverses colonies de bactéries, streptocoques et microcoques sans caractères spéciaux et qui sont bien connus depuis le Mémoire de Vignal. Le sérum de bœuf, mis à l'étuve à 37 degrés pendant 8 jours, a offert une culture de spores-levures assez abon-

dantes accompagnée de cocci en chaînettes ; le blanc d'œuf, après 8 jours de séjour à l'étuve à 39 degrés, a donné une culture presque pure de spores. Les tranches de pommes de terre stérilisées, sur l'indication que M. le médecin-inspecteur Fée, directeur du Service de santé du 11e Corps, a bien voulu me fournir, ont présenté une très belle culture de spores-levures mélangée à des streptocoques ; cette culture se présentait au troisième jour de l'ensemencement, à la température du laboratoire (18° c.) sous l'aspect suivant : croûte grise oblongue, composée de petits grains sphériques de 2 millimètres de diamètre, brillants, opalins, plus espacés à la périphérie, confluents au centre. Pour isoler définitivement ces spores, j'ai eu recours aux milieux acides et sucrés. Un liquide composé de :

Phosphate de soude. . .	0 gr.	05	centigrammes.
Sucre cristallisé. . . .	0	05	—
Chlorure de sodium. .	0	02	—
Eau stérilisée.	10	grammes.	

a donné une culture au 3e jour de l'ensemencement et à l'étuve à 37° c. — Mais les meilleurs résultats m'ont été fournis par le liquide de Raulin additionné d'un milligramme de nitrate d'argent pour 10 centimètres cubes. Une parcelle de crachat ensemencée dans un tube à essai contenant du liquide de Raulin donne, au bout de 10 jours de séjour à l'étuve à 37° c., une récolte abondante de levures. Le liquide se trouble au 3e ou 4e jour, puis apparaît une légère fermentation avec dépôt blanc laiteux sur les parois du tube. Si l'on a soin d'ensemencer le liquide Raulin avec une parcelle de culture de crachat sur pomme de terre, on peut avoir au 3e jour une culture pure de spores-levures.

La technique d'isolement peut donc se résumer ainsi qu'il suit :

1° Ensemencement de crachat sur pomme de terre ;

2° Ensemencement de la culture obtenue, dans le liquide de Raulin, additionné d'un dix-millième de nitrate d'argent ;

3° Mise à l'étuve à 37° c. pendant trois jours.

J'ai choisi le liquide Raulin à cause de sa composition définie qui permettra, dans des recherches ultérieures, d'étudier les conditions biologiques de l'élément nouveau observé dans les crachats des typhiques. Le nitrate d'argent a été introduit afin d'éliminer des cultures les dangers de contamination par les spores d'*aspergillus* qui sont si communes dans l'atmosphère.

Je me suis servi également de bouillon de veau peptonisé et acidifié à l'aide de l'acide lactique (1 p. 50); et, dans tous les cas, les résultats ont été les mêmes.

Ces données étant acquises, c'est-à-dire, d'une part, la constatation de l'abondance des spores-levures dans les crachats des malades, d'autre part, la possibilité de leur isolement par culture, il était utile de rechercher quelle était l'importance de ces éléments au point de vue de la physiologie pathologique du typhus exanthématique.

Pour résoudre cette question, j'ai étudié :

1° Leur morphologie;

2° Leurs réactions histochimiques;

3° Leur action sur les animaux.

Morphologie (*fig*. 5). — Les spores-levures, contenues dans les produits de l'expectoration des typhiques se présentent sous l'aspect d'éléments ovoïdes, brillants, réfringents, limités par une enveloppe à double contour, tantôt groupées par deux ou trois : quelques-unes bourgeonnent à la façon des *Saccharomyces cerivisiæ*, d'autres sont étranglées à leur milieu. Toutes possèdent un noyau de couleur plus foncée que la cellule, et, dans ce noyau, un ou plusieurs nucléoles sous forme de points noirâtres. Le noyau occupe parfois les deux tiers de la cellule, et les nucléoles forment comme une couronne concentrique à la membrane d'enveloppe. Les dimensions de ces cellules sont variables : leur plus grand diamètre atteint de 7 à 9 μ. Lorsqu'un crachat a été mis pendant quelques heures à l'abri de l'air, et qu'on en examine une parcelle en couche mince sous le microscope, on assiste à un phénomène singulier : on voit quelques spores s'entr'ouvrir et donner passage à un filament mince, muni d'un ou deux corpuscules sphériques d'un μ de diamètre environ. Le filament

est fin, flagelliforme et d'une longueur qui peut atteindre de 10 à 15 μ. Si l'on prélève, pour l'examen, une goutte de crachat renfermé depuis 2 ou 3 jours dans une pipette scellée à la lampe et laissée à la température du laboratoire, on constate, au moment de l'ouverture de la pipette, un dégagement subit de gaz avec projection vive d'une portion du crachat. Ce gaz est de l'acide carbonique, ainsi qu'il est facile de s'en assurer.

Il s'est donc produit, dans ces conditions, une véritable fermentation dans la pipette. A ce moment, si l'on fait une préparation, on voit de nombreuses spores-levures terminées par un filament sinueux muni d'une sorte d'ampoule à son extrémité ; ce filament est mobile, il s'étire sous les yeux de l'observateur, et nous avons pu, M. Ménéreul et moi, le voir affecter, en moins de 20 minutes, une longueur de 30 à 40 μ.

Une culture pure dans le liquide de Raulin permet de constater des spores à ces divers degrés de végétation; mais ce n'est que dans les crachats mis depuis quelques jours *à l'abri de l'air* que l'on voit les phénomènes ci-dessus décrits se produire. Il est à remarquer que ces apparences spirillaires *rappellent absolument* celles que l'on constate dans le sang des malades examiné à l'état frais et qui ont fait l'objet d'une note rédigée dans les *Annales Pasteur* de janvier 1892, en collaboration avec le Dr Thoinot.

Il semble que l'absence d'air soit nécessaire à la production de ces phénomènes ; car, si l'on observe un crachat qui est resté un jour ou deux à l'air libre, on ne voit que des spores-levures sans éléments spirillaires et en quantité innombrable. En faisant passer sous la préparation un courant de matière colorant très diluée, éosine à l'eau, violet aqueux de gentiane, hématoxyline, liquide de Gram, on se rend un compte très net du processus décrit ci-dessus et que plusieurs observateurs ont contrôlé dans le laboratoire.

Réactions histochimiques. — Il est facile d'étudier la structure des spores-levures en colorant une préparation de crachat ou de culture pure à la fuchsine phéniquée, puis en décolorant à l'aide d'une solution de sulfure de sodium et en reprenant avec le bleu de méthylène. La membrane d'enveloppe et le protoplasma sont fixés en bleu, et le noyau

tranche fortement par sa couleur rouge. Les acides concentrés éclaircissent le protoplasma et gonflent les cellules ; mais la membrane d'enveloppe ne se dissout qu'à la longue. Les bases énergiques, comme la potasse, la soude et même l'eau de chaux médicinale, dissolvent assez rapidement les spores-levures ; la glycérine détruit immédiatement les éléments spirillaires.

L'éther, le chloroforme, l'alcool à 95 degrés ne paraissent pas avoir d'action *in vitro*. La teinture d'iode iodurée colore vivement les noyaux en jaune d'or et ne les détruit pas.

Les hydrocarbures, et surtout l'essence de térébenthine, déterminent le gonflement des spores-levures et amènent en quelques heures la dissolution de leur protoplasma.

Action sur les animaux. — Pénétré de l'idée où j'étais que ces mucosités agglomérées dans l'arrière-bouche des typhiques, mucosités signalées par les auteurs anciens sous le *nom de glaires* et dans lesquelles je trouvais un élément toujours le même, devaient jouer un rôle prépondérant dans l'évolution de la maladie, je me suis efforcé d'inoculer des crachats sur les muqueuses nasale, pharyngienne et vaginale de divers animaux, lapins et cobayes. Les résultats ont été négatifs en ce sens que ces animaux n'ont paru aucunement se ressentir de ces opérations. Toutefois, l'examen au microscope du mucus nasal et vaginal au quatrième jour de l'inoculation a présenté un point intéressant, celui de l'absorption des spores-levures par les leucocytes macrophages. On voyait, dans les préparations, de grosses cellules renfermant deux ou plusieurs spores facilement reconnaissables à leur double contour encore net ; quelques spores paraissaient amincies, d'autres avaient perdu leur contenu. Les levures possédaient donc vis-à-vis des leucocytes un pouvoir chimiotaxique positif. Pour m'en assurer, j'ai introduit sous la peau d'un cobaye un tube capillaire fermé à un bout et rempli d'une culture pure de ces germes ; retiré après deux heures de séjour dans le tissu cellulaire sous-cutané, ce tube renfermait de nombreux leucocytes gonflés de spores.

Cette constatation rendait compte de la voie dont se sert l'économie pour le transport des spores dans son intimité. Mais, la barrière présentée par les épithéliums des

muqueuses paraissant difficilement franchissable, je cherchais à injecter des parcelles de crachats dans la trachée-artère des animaux. Je savais, en effet, par les expériences de Cl. Bernard, avec quelle facilité les parois aériennes absorbent les substances injectées sous la forme liquide ; je savais aussi que Gamaleïa avait démontré expérimentalement (*Annales Pasteur*, 1888) la puissante activité des cellules macrophages de la trachée. Je pratiquai, avec le concours de MM. Ménéreul et François, dans la trachée-artère d'un lapin, une injection de 2 centimètres cubes de crachat renfermant de nombreuses spores-levures. Deux jours après l'inoculation, le lapin présentait de l'inappétence, une température de 40 degrés ; au cinquième jour, le sang de l'oreille examiné par piqûre fourmillait des mêmes microorganismes que nous trouvions dans le sang de nos typhiques. Les formes courtes dominaient ; on rencontrait aussi quelques spirilles sporulées ; le sang était le siège d'une leucocytose abondante.

Nous avons reproduit ces inoculations dans la trachée sur quatre lapins avec des cultures pures de spores-levures, et nous avons obtenu constamment les mêmes résultats du cinquième au septième jour après l'opération. Aucun lapin n'a succombé, aucun n'a présenté d'éruption ; mais tous ont accusé une température élevée (40 à 42°) pendant une période de deux septenaires. Nous avons sacrifié un de nos opérés au dixième jour, et n'avons trouvé comme lésion que quelques hémorragies interstitielles très limitées en quelques points du myocarde, du foie et de la rate.

Tels sont les phénomènes que l'étude des crachats des typhiques a permis de constater. Ils permettent de conclure que les éléments, dont il est facile de vérifier la présence constante dans les produits de l'expectoration des malades, jouent un rôle important dans la physiologie pathologique du typhus exanthématique. Ces spores, dont la nature végétale ne fait aucun doute, ne cultivent que dans les milieux acides, et, s'il est un fait constant, c'est que chez tous les typhiques les sécrétions buccales sont acides.

La culture de ces germes se poursuit avec vigueur au

contact de l'air. Puis intervient l'action des leucocytes si abondants au niveau des organes lymphoïdes de l'arrière-bouche. Les cellules macrophages s'emparent des spores, les transportent dans la circulation, et les déversent dans le sang ; c'est alors que se produit un nouveau phénomène de germination comparable à celui que Hansen a décrit sur le *Saccharomyces Ludwigi*, Reess sur l'*Endomyces parasiticus* (1). Les spores développent une sorte de promycelium sous la forme spirillaire, ondulée, rappelant grossièrement les spirochètes de la fièvre récurrente.

Des recherches ultérieures sont nécessaires pour pénétrer dans l'intimité de cette nouvelle phase évolutive et en saisir le déterminisme; disons cependant que les spirilles du typhus exanthématique ne rencontrent pas dans le sang, milieu alcalin par excellence, un terrain favorable à leur reproduction. Elles végètent peu : les sporules que l'on rencontre dans la longueur des filaments au nombre de 2 ou 3 sous la forme de corpuscules arrondis, réfringents, de 3 à 6 μ de diamètre, se dissocient et sont éliminés par les reins dans les urines, où on les retrouve à côté des spirilles.

III. — Études sur les urines

Les urines de mes malades ont été examinées, comme leurs crachats, d'une façon quotidienne, et j'ai eu la bonne fortune d'observer à ce point de vue des phénomènes qui corroborent et qui complètent les faits dont je viens de tracer l'exposé sommaire. Les éléments spirillaires, ainsi que je le disais plus haut, ne végètent pas longtemps dans le sang ; pendant la période d'état de la maladie, et surtout au moment de la convalescence, il s'opère par les urines une véritable décharge de ces microorganismes. Si l'on prélève après quelques minutes de repos une goutte

(1) *Annales de micrographie*, t. III, p. 449.

du dépôt d'un verre à expérience contenant de l'urine fraîchement émise, et, si l'on examine sous lamelle sans coloration, on voit dans la préparation un grand nombre de spirilles de diverses formes, munis ou privés de sporules, facilement reconnaissables pour les observateurs qui ont constaté les mêmes productions dans le sang et dans les crachats.

Fait singulier, l'urine est toujours acide à la miction et elle reste acide pendant plus de 15 jours dans le récipient qui a servi à la recueillir.

J'ai procédé pour l'urine aux mêmes ensemencements que pour les crachats, et je suis arrivé à peu près aux mêmes résultats. A vrai dire, le meilleur milieu de culture pour les spores et leurs végétations spirillaires, c'est l'urine elle-même ; si l'on vient, en effet, à introduire dans une pipette une petite quantité d'urine, puis à fermer les deux bouts à la lampe et à mettre à l'étuve pendant 8 jours à 37 degrés centigrades, on obtient une culture pure de spores-levures et de spirilles.

L'urine de typhique, ensemencée dans le liquide de Raulin, donne des spores-levures en tout semblables à celles des crachats. Même constatation pour l'ensemencement sur pomme de terre : la culture est grisâtre, légèrement mamelonnée et se produit au troisième jour de l'ensemencement.

Le blanc d'œuf m'a paru un excellent milieu pour la production des spores.

Enfin, j'ai fait une dernière expérience pour éprouver la valeur de l'urine comme milieu de culture de ces germes. L'urine d'un homme sain, acidifiée et stérilisée au préalable, a reçu une parcelle de crachats de malade typhique, puis a été portée à l'étuve à 37 degrés. Au bout de 15 jours, 'examen d'une goutte de liquide a démontré la présence d'une grande quantité de spores.

L'urine des lapins inoculée par la trachée-artère à l'aide de crachats typhiques a été examinée à plusieurs reprises au microscope : j'y ai trouvé des spirilles et des spores identiques aux formes rencontrées dans l'urine de mes malades.

Telles sont les constatations que j'ai faites dans le sang, les crachats et les urines des malades atteints de typhus

exanthématique ; elles appellent de nouvelles recherches, mais la présence constante d'éléments univoques dans divers liquides de l'organisme mérite d'être signalée.

IV. — Nature du microorganisme

La nature de ce microorganisme est difficile à déterminer, eu égard à l'obscurité qui règne encore dans la science au sujet de la taxonomie des innombrables formes de la série cryptogamique. C'est par voie d'exclusion que nous pouvons arriver à assigner la parenté de cet élément polymorphe avec les parasites qui affectent tous à la fois des formes mycéliennes et des formes levures. A cet égard, le Mémoire de M. Laurent sur les nodosités radicales des légumineuses (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. V, page 105) nous fournit quelques données utilisables. Cet observateur a constaté sur les racines du pois, du lupin et d'autres végétaux de la même famille des microorganismes qui peuvent bourgeonner sous la forme de levures et qui donnent aussi des filaments mycéliens contournés, spirilliformes ; M. Laurent leur donne le nom de *Rhizobium leguminosarum*, et les rattache au groupe des Pasteuriacées dont fait partie déjà le *Pasteuria ramosa*, décrit par M. Metchnikoff (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, page 165). Avant les travaux de M. Laurent, deux observateurs, MM. Beyerinck et Prazmowski (*Botan. Zeitung* et *Botan-Centralblatt*, 1888), avaient cultivé les microbes des nodosités sur des bouillons de légumineuses gélatinisés et additionnés d'asparagine, et y avaient relaté la présence d'éléments mobiles transformables en bactérioïdes à formes plus ou moins ramifiées. Enfin M. Marshall Ward, dans les *Philosophical transactions of the royal Society of London* (1887 et 1889), avait signalé l'affinité de ces microorganismes avec les Ustilaginées qui produisent, elles aussi, des formes levures et des filaments.

Que résulte-t-il de l'ensemble de ces documents, sinon qu'on doit chercher la détermination botanique de l'organisme auquel ce typhus doit sa caractéristique dans le groupe

des champignons ascomycètes qui renferme les levures, ou dans celui des Ustilaginées, parasites habituels des graminées? Le typhus serait, dans ce dernier cas, une infection d'origine alimentaire.

V. — Conditions biologiques

Il resterait à déterminer les conditions biologiques de ces éléments et les influences qui peuvent les atténuer ou les détruire.

Je n'ai pu me livrer à cet égard qu'à des études fort incomplètes ; j'en exposerai cependant l'économie, en attendant qu'elles puissent faire l'objet d'un Mémoire spécial.

Les milieux acides ou sucrés, ainsi qu'il a été dit plus haut, ensemencés à l'aide d'une goutte de sang, de crachat ou d'urine, fournissent une culture pure d'une seule et même forme de microorganisme, à savoir : une spore levure dont les caractères morphologiques ont été établis dans les pages qui précèdent.

Si l'on prend des doses déterminées de diverses substances chimiques pour les mélanger à ces liquides de culture, on peut observer, suivant les cas, une production plus rapide de levures, un retard ou une absence de cette production.

J'ai expérimenté sur les cultures de sang et de crachats en milieu acide (liquide Raulin, bouillon lactique) quelques agents antiseptiques, avec le concours de M. Le Corre, étudiant en médecine.

Le sublimé au millième et l'acide phénique au centième n'ont retardé aucunement les cultures.

Les acides chlorhydrique et azotique dilués au centième ont paru sans effet. Il en a été de même de l'iode et du tannin.

L'iodure de potassium en solution à 1 p. 30 a paru favoriser le développement des cultures en milieu acide et sur pomme de terre.

Les alcalins (potasse au centième, eau de chaux médicinale) arrêtent les cultures en milieu acide et sur pomme de terre au bout de quelques jours (3 à 5 jours).

Si l'on soumet une culture rouge sur pomme de terre à l'action des alcalis, la coloration est détruite en quelques heures ; ce qui établit une distinction entre la levure rose (*Saccharomyces glutinis*), qui n'est pas décolorée par les bases, et la levure rencontrée chez les typhiques.

Le chloroforme, la benzine et les essences mises au contact des cultures acides ou sur pomme de terre ont arrêté rapidement la production des levures; les essences de girofle et de térébenthine ont paru avoir une action destructive sur le protoplasma de la spore-levure, qui se gonfle à leur contact et devient granuleux.

VI. — **Essais thérapeutiques**

Il aurait été intéressant d'appliquer ces données sommaires à la thérapeutique si pauvre du typhus exanthématique. Les expériences qui viennent d'être rapportées ont été entreprises après la cessation de l'épidémie qui a sévi en juillet à l'Ile-Tudy ; mais j'ai pu essayer l'emploi de l'essence de térébenthine *intus* et *extra* sur quatre cas, dont trois se sont produits à l'Ile-Tudy et un à Quimper, en décembre dernier.

Voici la façon dont j'administrais la térébenthine : Une potion contenant 4 grammes d'essence de térébenthine en émulsion dans un jaune d'œuf et un mucilage de gomme arabique et additionnée de teinture de cannelle, était donnée aux malades par cuillerée à café dans les 24 heures ; je joignais à la médication interne des frictions à l'huile térébenthinée : un tiers d'essence pour deux tiers d'huile. La guérison a été rapide et exempte de complications dans les quatre cas ainsi traités. Ces faits, eu égard à leur petit nombre, ne constituent qu'une très faible présomption en faveur de l'efficacité de cette méthode, et je me borne à les signaler.

VII. — Conclusions

Les conclusions de ces études sur le sang, les crachats et les urines des typhiques peuvent être ramenées aux points suivants :

1° On rencontre d'une façon constante, dans le sang des malades atteints du typhus exanthématique, un microorganisme mobile, polymorphe, qui affecte tantôt la forme de granulations ovoïdes, tantôt la forme de spirilles sporulées;

2° Ces granulations ovoïdes sont de nature végétale et appartiennent au genre levure (saccharomyces) ; ce sont elles qu'on retrouve par l'ensemencement du sang dans les milieux acides ou sucrés ; les milieux alcalins ensemencés avec du sang de typhiques sont stériles ;

3° Les spores-levures végètent d'une façon spéciale lorsqu'elles sont transportées brusquement d'un milieu acide dans un milieu neutre ou alcalin. Elles donnent naissance, dans ces conditions, à un promycélium spirilliforme. Le même phénomène se produit lorsqu'on inocule dans la trachée d'un animal une culture de spores-levures ; du cinquième au septième jour après l'inoculation, on observe dans le sang de l'animal, examiné par piqûre, de nombreuses formes spirillaires ;

4° Les crachats des typhiques renferment de grandes quantités de spores-levures : ces microorganismes sont englobés par les cellules macrophages et les leucocytes des muqueuses buccale, pharyngienne et trachéale, puis portés dans le sang où ils végètent sous la forme spirillaire ;

5° Les microorganismes du sang sont éliminés par les urines, où on les retrouve à l'état de spirilles et de spores.

6° Les milieux de culture employés pour déceler dans le sang la présence des spores-levures conviennent également à l'analyse microbiologique des produits de l'expectoration et des urines ;

7° Les substances chimiques qui paraissent devoir s'opposer au développement de ces éléments dans les cultures

sont constituées par les alcalins et les essences, l'essence de térébenthine en particulier.

Tels sont les faits qui ressortent des recherches que j'ai entreprises depuis plusieurs mois : je les soumets à l'attention des médecins qui exercent dans les pays ravagés par le typhus exanthématique (Irlande et Russie).

Addendum. — Ce Mémoire a été adressé en Janvier au Ministère de la guerre (1) et présenté à l'Académie de médecine, dans la séance du 20 février 1892, par M. le Médecin-Inspecteur général Léon Colin. Depuis cette époque la *Deustsche Medecin Wochenschrift*, n° 13, a relaté les recherches de M. le D[r] Levaschew, professeur à la Faculté de médecine de Kasan, qui confirment les faits que j'ai signalés. Cet observateur, au cours d'une épidémie de typhus exanthématique qui a sévi dans quelques provinces de l'empire russe, à Kasan en particulier, a constaté dans ses examens bactériologiques un microbe qu'il appelle *Coccus spirillum* ou *Spirochete exanthematicum.* On prend, dit-il, une petite goutte de sang que l'on étend sur une lamelle en couche aussi mince que possible : si l'on examine une préparation faite avec le sang extrait de la rate d'un malade atteint de typhus exanthématique, on aperçoit entre les globules sanguins de très petits corpuscules arrondis, très réfringents, très mobiles en tous sens dans les préparations fraîches. Par un examen attentif, on les voit souvent munis d'une sorte de flagellum plus ou moins long, quelquefois irrégulièrement renflé en un point de sa longueur et animé de mouvements très rapides. Les flagella semblent quelquefois isolés ; mais, si on les suit quelque temps, on voit en général qu'ils sont en connexion avec une partie renflée. Coccus simple, flagellum isolé ne sont probablement que les divers aspects d'un même microorganisme. Si l'on ensemence le sang des malades sur du sérum d'ascite additionné de 1 à 2 p. 100 d'agar-agar, au bout de 24 heures à 37° centigrades,

(1) Qu'il me soit permis, à cet égard, d'exprimer toute ma reconnaissance à M. le médecin-inspecteur Dujardin-Beaumetz, directeur du service de santé au Ministère de la Guerre, à M. le médecin-inspecteur Féo et au professeur Vaillard du Val-de-Grâce), pour l'appui et les conseils qu'ils ont bien voulu me donner.

on aperçoit déjà de petites colonies sous forme de nuages blanchâtres et transparents situés vers le fond du tube : ce sont des cultures pures. Ce microbe se développe mal et lentement sur plaques.

Ces constatations sont identiques à celles que j'ai faites ; si le Dr Levaschew avait étudié la microbiologie des organismes renfermés dans les crachats et les urines de ses typhiques, il aurait probablement observé les mêmes phénomènes que ceux qui ont servi de base à la seconde partie de ce Mémoire et qui, à mon sens, éclairent d'un nouveau jour la physiologie pathologique du typhus. C'est dans la bouche, au niveau des muqueuses des premières voies aériennes, que commence le processus infectieux ; c'est dans le sang qu'il continue et dans les urines qu'il s'achève.

Quimper, le 1er décembre 1892.

EXPLICATION DES FIGURES DE LA PLANCHE III

Fig. 1. — Typhus exanthématique. Sang extrait de la rate. Leucocytose intense. éléments spirilliformes et granulations mobiles. — Grossiss. : 800 D.

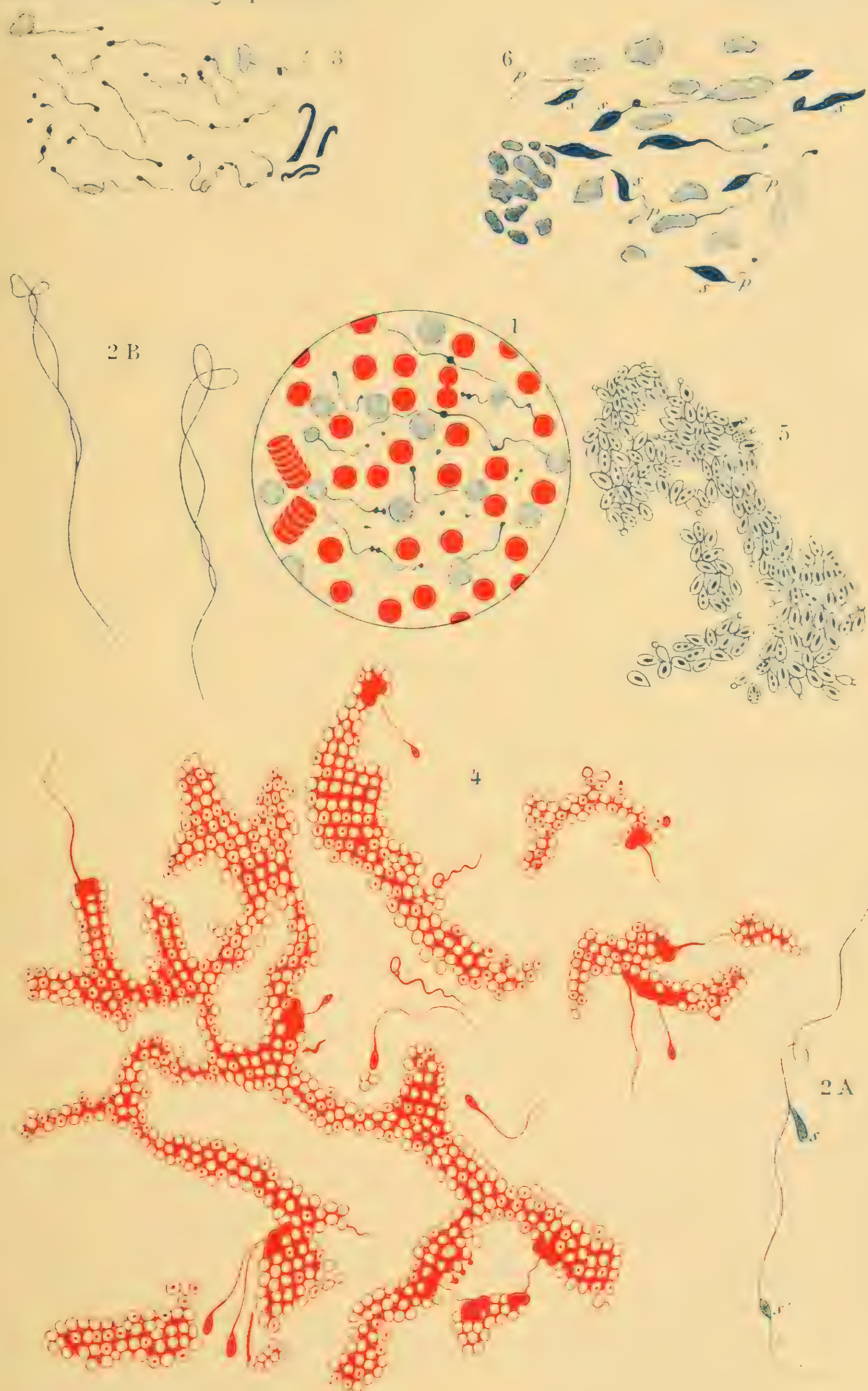
Fig. 2. — (Sang examiné 1 heure après son issue du doigt ou de la rate.) Grands éléments spirilliformes. — A, éléments doués de vitalité; *ss'*, spores. — B, élément désagrégé et privé de spores. — Grossiss. : 1000 D.

Fig. 3. — Différentes formes affectées par les microorganismes dans le sang des typhiques exanthématiques. — Grossiss : 800 D.

Fig. 4. — Préparation provenant de culture de sang typhique en milieu acide, reportée sur pomme de terre. — Acide osmique et liquide de Ziehl. — Grossiss. : 800 D.

Fig. 5. — Spores-levures provenant de la culture des produits de l'expectoration des typhiques exanthématiques. — Grossiss. : 800 D.

Fig 6. — Préparation d'un crachat de typhique exanthématique renfermé dans une pipette scellée à la lampe pendant 3 jours. — *s*, spores-levures déformées. — *p*, promycélium spirilliforme.



Dr Calmette del. Oberlin, lith.

TYPHUS EXANTHÉMATIQUE

IMP. A. JANNIOT & Cie PARIS.

BIBLIOGRAPHIE

George Sternberg. — **A manual of Bacteriology.** Grand vol. in-8, XII-886 pages, avec planches et figures. Libr. William Wood and Company, New-York, 1892.

Le Dr Georges Sternberg, dont on connaît les recherches classiques sur les désinfectants et la fièvre jaune, vient de publier un magnifique ouvrage modestement intitulé : *Manuel de bactériologie.* A notre sens, un titre plus approprié au contenu de ce livre pourrait être celui de : *Traité général de bactériologie;* en effet, ce *Manuel* est un gros volume cartonné de près de 900 pages parsemé de nombreuses planches polychromes parfaitement réussies et accompagnées, pour la facilité des descriptions, de 268 gravures intercalées dans le texte, dont beaucoup sont des reproductions photographiques, et dont plusieurs sont tirées en couleur. Comme soin et beauté d'exécution apportés à l'impression et à la correction de ce livre, ce *Manuel* me semble laisser derrière lui ceux qui ont été publiés jusqu'à ce jour.

Le Dr G. Sternberg n'a pas jugé utile de se perdre, comme quelques bactériologistes nous en donnent l'exemple, dans des considérations multiples, dans des digressions superflues, des vues *a priori*, *a posteriori*, etc... ; en un mot, il n'a pas admis qu'un livre didactique devînt une sorte de tribune d'où quelques professeurs aiment à défendre des idées plutôt chères que conformes à la réalité des faits.

Le Dr G. Sternberg laisse, cependant, place dans son ouvrage aux appréciations personnelles, mais elles sont toujours brèves et concises; aussi cette sobriété de style, unie à une constante clarté, n'est pas un des moindres agréments que procure la lecture de son *Manuel* qu'il divise en quatre parties, contenant chacune de nombreux chapitres.

La première partie expose la classification, la morphologie des bactéries et des méthodes générales d'investigation que leur étude réclame ; comme on s'en doute, les questions des milieux de cultures sont traitées avec tout le développement nécessaire. Attirons l'attention du lecteur sur le paragraphe, très intéressant, de la photographie des bactéries et de leurs cultures; cependant nous avons éprouvé le regret de trouver ce sujet un peu trop écourté ; nous aurions voulu lire en détail dans ce chapitre les procédés qui ont

permis à l'auteur d'obtenir les magnifiques épreuves qu'il a publiées; dans un sujet où l'on est passé maître, on n'a peut-être pas le droit de terminer le paragraphe des conseils par un etc...

La seconde partie est consacrée à l'exposition des caractères biologiques généraux des bactéries, à leur mode de reproduction, de locomotion, aux produits: ptomaïnes, toxalbumines, diastases qu'ils sécrètent pendant leur existence, à l'action qu'exerce sur eux les agents physiques et chimiques, et ce dernier sujet nous a remémoré les belles recherches, déjà anciennes, du Dr G. Sternberg sur les désinfectants (1879-1880).

La troisième partie du *Manuel* traite des bactéries pathogènes.

Enfin la quatrième partie est réservée à l'étude des saprophytes de l'air, du sol et des eaux, aux bactéries épiphénoménales, à celles que l'on trouve dans les organes ouverts de l'économie, dans les substances en putréfaction et qu'on comprend sous le terme général de bactéries saprophytes, qu'on doit aussi, il me semble, appeler bactéries utiles et bienfaisantes. C'est, en effet, grâce à elles et à quelques autres végétaux inférieurs que les éléments indispensables à la vie des plantes et des animaux circulent sans cesse dans la nature. Vu le nombre toujours croissant des agents saprogènes dévoilés par les recherches des bactériologistes, l'étude de cette classe d'organismes devient de jour en jour plus difficile; on connaît, effectivement, aujourd'hui plus de 500 de ces bactéries. Le Dr Sternberg les a non seulement énumérées avec soin, mais il a consacré à chacune d'elles une monographie spéciale très lucide, pouvant rendre les plus grands services aux bactériologistes; il a eu, même, l'excellente idée de les grouper en une sorte de flore d'après leurs caractères généraux de façon à faciliter rapidement leur diagnose.

Si nous ajoutons que l'index bibliographique qui termine l'ouvrage comprend 2582 articles, nous aurons donné en quelques lignes une idée de l'œuvre considérable que le Major Sternberg vient d'offrir aux étudiants et aux bactériologistes de profession. Certainement cet ouvrage doit trouver sa place dans tous les laboratoires, et il mérite, de plus, de devenir le *vade-mecum* du travailleur qui, grâce aux nombreuses tables qu'il renferme, peut sans perte de temps appréciable, consulter les sujets sur lesquels il désire obtenir d'utiles renseignements.

Dr M.

Meddeleser fra Carlsberg Laboratoriet. 2e fasc. du 3e vol., 1892.

Ce savant journal, dont les livraisons sont impatiemment attendues par tous ceux qui s'intéressent aux phénomènes biologiques des fermentations et qui a déjà rendu de si grands services à l'in-

dustrie des boissons fermentées, vient de faire paraître le 2e fascicule de son 3e volume. Comme toujours le texte danois de cette publication est accompagné d'un résumé en français de tous les mémoires insérés ; c'est là, de la part du comité de rédaction, une attention dont nous apprécions hautement toute la délicatesse, qui nous permet, d'ailleurs, de juger plus aisément le grand mérite des travaux qui sortent depuis plus de 10 ans du laboratoire dont le Dr Emil-Chr. Hansen est le Directeur.

Nous trouvons dans ce 2e fascicule un travail très intéressant de M. Just-Chr. Holm sur les *Analyses biologiques et zymotechniques de l'eau destinée aux brasseries*, auquel fait suite un important mémoire de M. E.-Chr. Hansen sur les *Recherches faites dans la pratique de l'industrie des fermentations*. Notre intention n'est pas de donner un aperçu de ces mémoires, mais seulement de les signaler aux lecteurs de ces *Annales*, qui savent, depuis longtemps, ce que la Science et l'Industrie doivent d'utiles découvertes au Dr Emil-Chr. Hansen et à ses nombreux élèves.

Dr M.

Le Micrographe-préparateur. *Journal mensuel de micrographie générale et de technique micrographique.* Chez M. Tempère, 168, rue Saint-Antoine, Paris.

Nous venons de recevoir la 1re livraison d'un nouveau journal des Sciences micrographiques destiné, à notre sens, à venir en aide à tous ceux qui manient le microscope et qui s'en servent pour étudier les tissus végétaux et animaux, les champignons, les algues et les animalcules microscopiques. L'habileté de M. Tempère comme préparateur nous est un gage certain que la partie technique de cette feuille sera remarquablement traitée ; d'autre part, les spécialistes bien connus dans les diverses branches de la microscopie, que M. Tempère a su s'attirer comme collaborateurs, nous font également espérer que les articles du *Micrographe-préparateur* seront à la fois instructifs et attrayants ; nous souhaitons, en conséquence, le plus grand succès à cette feuille périodique.

Dr M.

PUBLICATIONS RÉCENTES

Mlle Tsiklinski. — Recherches sur la virulence de la bactéridie (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, p. 465).

Dr Werigo. — Les globules blancs comme protecteurs du sang (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 478).

A. Péré. — Contribution à la biologie du *Bacterium coli commune* et du bacille typhique (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 512).

Dache et Malvoz. — Nouveaux faits concernant le rôle du système nerveux dans l'infection microbienne (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 538).

J. Soudakewitch. — Parasitisme intracellulaire des néoplasies cancéreuses (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, p. 545).

Ad. Lucet. — Etude sur une nouvelle maladie septique du lapin (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, p. 558).

E. Kayser. — Contribution à l'étude des levures du vin (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, p. 569).

E. Duclaux. — Sur l'action antiseptique de l'acide formique (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, p. 593).

Khoudabachian. — Sur la présence de l'acide formique dans les raisins et les vins (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 600).

Dr Calmette. — Contribution à l'étude des ferments de l'amidon. La levure chinoise (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 604).

L. Rénon. — Etude sur quatre cas de choléra (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 621).

E. Hankin et F.-F. Wesbrook. — Sur les albumoses et les toxalbumines sécrétées par le bacille charbonneux (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 633).

E. Duclaux. — Sur la coagulation du sulfate de quinine (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 657).

L. Vaillard. — De l'action des humeurs d'un animal immunisé contre le tétanos sur le virus de cette maladie (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 676).

G.-H.-H. Spronck. — Tumeurs malignes et maladies infectieuses (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 683).

G. Iawein. — Observations sur les cobayes immunisés par les vaccins anti cholériques vivants (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 708).

Dr Tamamcheff. — Expériences sur les vaccins phéniqués de Haffkine (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 713).

Joseph Sanarelli. — Etudes sur la fièvre typhoïde expérimentale (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 721).

Chantemesse et Widal. — Etude expérimentale sur l'exaltation, l'immunisation et la thérapeutique de l'infection typhique (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 755).

Nicolle. — Méthode de recherche des microorganismes qui ne se colorent pas par le procédé de Gram (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 783).

C. Gessard. — Sur la fonction fluorescigène des microbes. (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 801).

Th. Schlæsing fils et Em. Laurent. — Sur la fixation de l'azote libre par les plantes (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 824).

Adrien Lucet. — De l'ostéo-arthrite aiguë infectieuse des jeunes oies (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 841).

Le Dantec. — Origine tellurique du poison des flèches des Nouvelles-Hébrides (Océanie) (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VI, page 851).

E.-M. Nelson. — Further notes on the Monochromatic Illuminating Apparatus (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 1).

A.-W. Bennett. — Freshwater Algæ and Schizophyceæ of Southwest Surrey (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 4).

J.-W. Gifford. — The Resolution of Amphipleura pellucida (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 173).

E.-M. Nelson. — Virtual Images and Initial Magnifying Power (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 180).

A. Chifford Mercer. — On a Series of Lantern Slides: Photomicrographs and Photographs of Photomicrographic Apparatus (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 305).

FREDERICK CHAPMAN. — The Foraminifera of the Gault of Folkestone (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 319 et 749).

E.-M. NELSON. — The Penetrating Power of the Microscope (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 331).

R.-T. LEWIS. — Note on the Process of Oviposition as observed in a Species of Cattle Tick (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 449).

GEORGE MASSEE. — *Heterosporium Asperatum* (Berk.) Mass., a Parasitic Fungus (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 577).

W. WEST. — Algæ of the English Lake District (*Journal of the Royal Microscopical Society*, 1892, page 713).

CH. RICHET. — De l'action de quelques sels métalliques sur la fermentation lactique (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXIV, p. 1494).

ARLOING. — Sur la présence et la nature de la substance phylacogène dans les cultures liquides ordinaires du *Bacillus anthracis* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXIV, p. 1521).

F. HENNEGUY et P. THÉLOHAN. — Sur un sporozoaire parasite des muscles des Crustacés décapodes (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXIV, p. 1552).

P. VIALA et C. SAUVAGEAU. — Sur la Brunissure, maladie de la vigne causée par le *Plasmodiophora Vitis* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXIV, p. 1558).

CHARRIN et PHISALIX. — Abolition persistante de la fonction chromogène du *Bacillus pyocyaneus* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXIV, p. 1565).

LORTET et DESPEIGNES. — Vers de terre et tuberculose (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 66).

P. VIALA et C. SAUVAGEAU. — Sur la maladie de Californie, maladie de la vigne causée par le *Plasmodiophora Californica* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 67).

DELAMOTTE. — Contribution à l'étude de la septicémie gangréneuse chez le cheval (Paris, 1891, Asselin et Houzeau).

A.-B. GRIFFITHS. — Sur une nouvelle leucomaïne (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXX, p. 185).

G. Guillemin. — Analyse micrographique des alliages (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 132).

C. Phisalix. — Régénération expérimentale de la propriété sporogène chez le *Bacillus anthracis* qui a été préalablement destitué par la chaleur (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 253).

J. Huber et F. Jadin. — Sur une algue perforante d'eau douce : *Hyella fontana* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 262).

C.-Eg. Bertrand et B. Renault. — Sur une algue permienne, à structure conservée, trouvée dans le boghead d'Autun, le *Pila bibractensis* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 298).

A.-B. Griffiths. — Sur la matière colorante du *Micrococcus prodigiosus* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 321).

C. Sauvageau. — Sur l'état coccoïde d'un Nostoc (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 322).

P. Mariot. — Sur une Algue qui vit dans les racines des Cycadées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 325).

V. Babès. — L'étiologie d'une enzootie des moutons dénommée *Carceag* en Roumanie (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 359).

J. Perrau. -- Sur une nouvelle fonction chimique du bacille-virgule du choléra asiatique (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 361).

Domingos Freire. — Sur l'origine bactérienne de la fièvre bilieuse des pays chauds (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 366).

A.-B. Griffiths. — Sur une ptomaïne obtenue par la culture du *Micrococcus tetragenus* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 418).

A. Charrin et H. Roger. — Influence de quelques gaz délétères sur la marche de l'infection charbonneuse (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 421).

Barthelémy. — Contribution à l'asepsie dans la térapeutique hypodermique (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 423).

Dr A. Sclavo. — Di un rapido processo par la colorazione delle ciglia di alguni microorganismi (*Laboratori scientifici della direzione di sanita*. Rome, 1893).

Dr A. Sclavo. — Di algune nuove proprieta dello spirillo colerigeno di Koch et degli spirilli affini di Metzchnikoff, di Finkler e di Dencke(*Laboratori scientifici della direzione di sanita,* Rome, 1892).

Dr A. Sclavo. — Di un nuovo apparecchio par la prisa dell'acqua a profondita (*Laboratori scientifici della direzione di sanita*, Rome, 1892).

Dr A. Sclavo. — Della conservazione dei virus in glicerina (*Laboratori scientifici della direzione di sanita*, Rome, 1892).

J. Rossi. — Contribution à l'étude bactériologique des eaux (thèse, Genève, 1892).

Dr V. Tassinari. — Ricerche sull'aria di una fabbrica di tessuti rispetto al contenuto in microorganismi (*Annali dell'Inst. d'Igiene sperim. della R. Università di Roma*, vol. II, fasc. III).

A. Lévy et P. Miquel. — Note sur l'altération progressive de la Seine (*Revue d'hygiène*, t. XIV, n° 10, 1892).

P. Pichi et A. Marescalchi. — Sulla fermentazione del mosto di uva con fermenti selezionati (*Annali della Scuola Enologica di Conegliano* série III, anno I, 1872, fasc. III).

ERRATA

Mémoire de M. Zabolotny

Page 26, *lire : Hadji-Bey et non Kadji-Stey.*
— 27, *lire : Koch-Ehrlich et non Roch-Ehrlich.*
— 29, *lire : Dr J-J Bardach et non J-Z Bardach.*
Bibliographie. — N° 3, *lire*: Zopf *et non* Zoyf.
— N° 6, *lire*: 1890 *et non* 1870.
— N° 11, *lire*: mit *et non* nutz.
— N° 14, *lire*: den lebindigen Organismen.
— N° 15, *lire*: organisizten Körper.

L'Éditeur-Gérant : Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

NOUVELLES RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LA

MÉROTOMIE DES INFUSOIRES CILIÉS

Par E.-G. BALBIANI

Deuxième partie (1)

(*Suite et fin*)

Partie générale

Les faits de mérotomie observés chez les Protozoaires constituent déjà un matériel nombreux et important pour l'histoire générale de la physiologie cellulaire. D'autre part, l'emploi de la méthode expérimentale dans l'étude des cellules végétales, telle qu'elle a été inaugurée par les travaux de Schmitz, de Klebs et d'autres observateurs, a conduit à des résultats offrant une grande analogie avec ceux observés chez les animaux. Enfin, une troisième source d'information, l'observation directe des phénomènes morphologiques des cellules animales et végétales, a permis à quelques auteurs, tels que Korschelt et Haberlandt, d'en tirer des déductions importantes sur les fonctions cellulaires, principalement sur les rapports du noyau avec les dépôts nutritifs et sécrétoires du protoplasma.

De l'ensemble de ces faits il se dégage d'abord une première conclusion capitale, concernant les rôles respectifs du protoplasma et du noyau.

(1) Voy., pour la première partie, le tome IV, nos 8 à 10, 1892, des *Annales de Micrographie*.

Si nous divisons les fonctions des cellules en deux grandes catégories, dont l'une comprend toutes les manifestations de mouvement qui ont leur siège dans le protoplasma et ses appendices : mouvements amiboïde et ciliaire, mouvements d'ingestion et d'égestion des aliments, pulsations de la vésicule contractile ; l'autre, les manifestations diverses de l'activité sécrétoire du protoplasma : digestion intracellulaire, sécrétion des enveloppes cellulaires (cuticule, cellulose, couche calcaire et couche muqueuse, etc.) nous voyons que toutes les fonctions de la première catégorie peuvent s'exercer sans la participation dù noyau. Il me suffit de rappeler à cet égard les observations concordantes de tous les auteurs sur la continuation des mouvements amiboïde et ciliaire sur les fragments sans noyau des Rhizopodes et des Infusoires ; celles de Hofer et les miennes sur la persistance des pulsations de la vésicule contractile chez ces mêmes fragments ; mes observations sur la faculté qu'ils possèdent de continuer à prendre de la nourriture par la bouche, et d'évacuer par l'anus les restes non digérés de leurs aliments, ainsi que je l'ai montré chez divers Ciliés. Mes expériences, confirmées par celles de Verworn, ont montré en outre que ces phénomènes de mouvement s'exécutent avec la même régularité que chez les individus intacts, après une période de trouble due à l'excitation provoquée par l'opération. Le ralentissement et l'irrégularité des mouvements qu'on observe plus tard ne doivent pas être attribués à l'absence du noyau, mais à la dégénération progressive du plasma, qui est la conséquence de cette absence. C'est donc d'une manière indirecte et non directe que les phénomènes de mouvement de la cellule sont influencés par le noyau.

Un autre genre de mouvement du protoplasma, qui est soustrait à l'action immédiate du noyau, est celui qui détermine l'étranglement du corps de la cellule dans la multiplication par division naturelle. C'est ce que prouvent mes expériences, rapportées précédemment, sur les Stentors mérotomisés au début de la reproduction fissipare, alors que le corps ne présente encore aucune trace d'étranglement. La division s'effectue sur les fragments sans noyau, comme elle se fût faite si ces fragments étaient res-

tés en place sur l'individu intact, mais elle va rarement jusqu'à donner lieu à la séparation complète des deux parties du fragment ; le plus souvent, la division s'arrête après être arrivée à un stade plus ou moins avancé, et les deux parties se réunissent de nouveau en un seul tout. J'ai cru pouvoir en conclure que l'initiative de la division et la force qui en provoquait les premières phases résidaient dans le protoplasma lui-même, mais que, pour produire tous ses effets, cette force avait besoin d'être appuyée par l'action du noyau.

Ces phénomènes de division incomplète se manifestent surtout d'une manière remarquable chez les Paramécies (*Paramæcium Aurelia*), où elles donnent lieu à la formation de ces agrégations d'individus représentant des sortes de colonies irrégulières, comme j'en ai rapporté plusieurs exemples plus haut. Il est vrai que, chez cette espèce, ce n'est pas sur des fragments sans noyau que ces faits s'observent, mais sur des individus lésés dans leur partie antérieure et présentant un noyau plus ou moins volumineux. Dans l'impossibilité de donner une explication positive de ce fait, j'ai supposé que le noyau avait subi une lésion pendant la section de l'animal, section ayant pour effet d'abolir son influence sur les derniers stades de la division destinés à amener la séparation complète des deux individus résultant de la division, comme nous l'avons admis plus haut pour le Stentor. Mais ce n'est là qu'une hypothèse qui ne s'appuie sur aucun fait expérimental. Si l'on considère en outre que les Paramécies sont les seuls Ciliés connus jusqu'ici chez lesquels le noyau est inapte à provoquer la régénération des parties perdues du corps, peut-être peut-on songer à établir une connexion entre ce fait et les divisions incomplètes des mérozoïtes qui sont l'origine de ces colonies anormales ; mais nous ignorons complètement le lien qui peut exister entre ces deux phénomènes. Vraisemblablement, il y a plus qu'une simple coïncidence.

Nous avons dit qu'un ordre de fonctions sur lequel le noyau exerçait une influence indéniable était celui des sécrétions cellulaires. Cette assertion s'applique aux cellules animales aussi bien qu'aux cellules végétales. Il me

suffit de rappeler, en ce qui concerne ces dernières, les observations de Schmitz et de Klebs sur la sécrétion de la cellulose et de l'amidon dans les cellules des Algues (Siphonocladiacées, *Zygnema*, *Spirogyra*). Relativement aux cellules animales, nous avons cité les expériences de Hofer et de Verworn, qui ont vu, chez les Rhizopodes, les sécrétions de la surface du corps (têt calcaire chez le *Polystomella crispa*, couche muqueuse chez l'*Amœba Proteus*) s'arrêter dans les fragments sans noyau. Chez les Ciliés, j'ai montré qu'il en était de même de la sécrétion de la cuticule, au moyen de laquelle a lieu la cicatrisation de la plaie produite par la section, ce qui expose le fragment sans noyau à l'imbibition de l'eau amenant promptement sa désorganisation. La sécrétion du suc digestif dans les vacuoles alimentaires a également lieu sous l'influence du noyau, comme l'ont montré les expériences de Hofer chez l'Amibe, et les miennes chez les Paramécies. Enfin il résulte de mes expériences sur les Stentors qui viennent de se conjuguer que la résorption du vieux noyau n'a pas lieu dans les fragments qui ne contiennent pas le noyau de nouvelle formation, tandis que cette résorption se fait comme chez les individus ordinaires dans le fragment qui renferme le noyau nouveau, dès que celui-ci commence à apparaître.

En résumé, il résulte de ce qui précède qu'on peut formuler d'une manière générale les rôles respectifs du protoplasma et du noyau dans les manifestations vitales de la cellule, en disant que par une sorte de division du travail les fonctions les plus élevées ou, si l'on veut, les fonctions de la vie de relation échoient au protoplasma, tandis qu'au noyau sont dévolues les fonctions plus secondaires, ou celles de la vie de nutrition. C'est une conception que les physiologistes s'étaient formée depuis longtemps par des vues *a priori* sur le rôle des deux éléments cellulaires, mais à laquelle les expériences de mérotomie viennent donner pour la première fois une démonstration expérimentale.

Il ne s'agit ici, bien entendu, que des fonctions de la vie individuelle des cellules, tandis que, si nous faisions entrer en ligne de compte celles de la vie spécifique, c'est-

à-dire les fonctions de reproduction, nous serions conduits à une conclusion toute différente, les théories les plus en vogue attribuant en effet au noyau une part prépondérante, quelques-unes même une action exclusive dans les phénomènes de fécondation et d'hérédité. Mais, envisagées à ce point de vue, les fonctions cellulaires ne rentrent pas dans le cadre de notre étude, nous n'avons donc pas à nous y arrêter ici. On peut cependant se demander s'il n'y a pas une connexité entre les fonctions génésiques du noyau, principalement sa signification comme agent de transmission héréditaire et la plus importante de ses propriétés révélée par les faits de mérotomie : je veux parler de sa propriété conservatrice de la forme spécifique, manifestée par la régénération des parties perdues.

La propriété en vertu de laquelle le noyau transmet la forme spécifique à travers de nombreuses générations issues les unes des autres nous paraît bien de même nature que celle par laquelle cette forme est récupérée chez le même individu, lorsque, par le fait d'une lésion, elle est plus ou moins altérée. Le fait que cette répétition de la forme se passe ici dans un seul et même organisme, tandis que l'hérédité la répète dans une succession indéfinie d'organismes, ne saurait constituer une différence essentielle entre les deux processus. Chez beaucoup de Métazoaires, nous voyons les parties séparées du corps se reproduire un grand nombre de fois chez le même individu, et nous observons dans cette reproduction des processus entièrement comparables à ceux du développement embryonnaire. Il n'y a pas non plus une différence primordiale résultant de ce que, dans le premier cas, il s'agit d'un organisme unicellulaire, et dans le second d'un organisme multicellulaire. Chez le premier, le noyau et la cellule restent simples et indivis, tandis que chez le second ils se multiplient et produisent un grand nombre de cellules et de noyaux nouveaux, qui se différencient en tissus et organes distincts. Si l'on admet avec WEISMANN que le noyau se compose d'autant de qualités de substances ou de plasmas différents qu'il doit se développer d'organes distincts dans le cours de l'évolution, il suffit de concevoir que, dans le cas de l'organisme unicellulaire, tous ces plasmas demeurent

réunis dans le même noyau indivis, tandis que, chez l'organisme multicellulaire les plasmas divers se séparent les uns des autres et se répartissent dans les diverses générations de cellules destinées à se transformer en éléments et tissus distincts. Le nombre et le rythme des divisions cellulaires dans les diverses parties du corps viennent compléter ici les différences spécifiques ou individuelles.

Dans un travail récent, Bergh (1) n'a pas cru pouvoir considérer comme une preuve du rôle du noyau dans la transmission des propriétés héréditaires la faculté qu'il possède d'entretenir la vitalité chez les fragments des Protozoaires. Cette dernière propriété est évidemment une faculté distincte de la régénération, puisque nous voyons le protoplasma lui-même en être doué jusqu'à un certain degré chez les fragments sans noyau, et sous ce rapport nous ne pouvons qu'être de l'avis de Bergh. Mais la régénération des fragments et la transmission héréditaire des caractères spécifiques sont bien des phénomènes du même ordre, qui remontent à une cause identique, et ont pour siège le même élément cellulaire, comme nous l'avons montré plus haut.

En plaçant dans le noyau le foyer de l'activité formative et régénérative de la cellule, je ne veux pas dire pour cela que je n'attribue au protoplasma aucune part active dans les processus morphologiques de la cellule. Je ne donne pas au rapport des deux éléments le sens de la comparaison employée par Aristote pour exprimer le rôle des substances mâle et femelle dans l'acte de la génération, et si souvent reproduite depuis dans les théories vitalistes : celle du potier façonnant l'argile, le noyau jouant ici le rôle du potier, et le protoplasma celui de la matière plastique. En nous fondant sur les faits d'observation, nous sommes même en droit d'attribuer au protoplasma un rôle plus actif qu'au noyau dans les processus vitaux de la cellule, car, d'une part, la cellule ou un fragment de cellule sans noyau peut vivre plusieurs jours tout en jouissant de ses propriétés de mouvements et d'une partie de ses fonctions

---

(1) R.-S. Bergh, Kritik einer modernen Hypothese von der Uebertragung erblicher Eigenschaften. *Zoöl. Anz.*, 1892, Nr. 383.

de nutrition, tandis que le noyau périt presque aussitôt qu'il est isolé du protoplasma. D'autre part, nous avons vu que dans la division cellulaire le protoplasma pouvait prendre sans le noyau l'initiative de cette division, et en accomplir tout seul les premiers stades, ou même la conduire jusqu'au bout dans certains cas. Là, au contraire, où le rôle du noyau est évident, comme dans la régénération, nous ne voyons jamais celui-ci prendre les devants, et c'est toujours associé au protoplasma qu'il exerce son action dans la cellule. Il est probable d'ailleurs que chaque élément joue un rôle spécial dans la régénération : celui du protoplasma comme matière plastique des organes est évident, mais il peut être en outre le siège de mouvements intimes, que le noyau aurait plus spécialement pour mission de diriger et de coordonner suivant la forme à donner à chaque organe ; c'est dans ce sens qu'on peut dire que le noyau est un agent conservateur de la forme, soit qu'il la restitue à l'individu mutilé, comme dans la régénération cellulaire, soit qu'il la transmette, par fécondation et hérédité, à d'autres individus, comme dans la génération sexuelle. Il n'y a donc point d'antagonisme entre les deux éléments cellulaires, comme l'ont prétendu quelques auteurs : tous deux réunis forment une unité physiologique comme ils constituent une unité morphologique. Chacun d'eux tour à tour, suivant la fonction que la cellule a à remplir, peut devenir un centre d'impulsion, qui agit seul ou associé à l'autre élément composant.

Par quel mécanisme se réalise cette action harmonique entre le protoplasma et le noyau ? Les hypothèses se sont donné ici libre carrière. Pour Hofer, le noyau joue le rôle d'un *centre régulateur* des mouvements du protoplasma, tandis que pour Verworn tous les processus vitaux de la cellule sont le résultat des échanges de matière qui ont lieu entre le noyau, le corps protoplasmique et le monde extérieur (1).

---

(1) Dans son Mémoire cité des Archives de Pflüger, Verworn a longuement discuté ces deux hypothèses. Nous ne nous arrêtons pas à ces vues théoriques, pour lesquelles nous renvoyons aux Mémoires des deux auteurs. Dans cet ordre d'idées, nous rappellerons aussi le travail de Whitman, The seat of formative and regenerative energy. *Journal of Morphology*, t. II, 1888, p. 27.

Une autre question, qui rentre davantage dans le domaine des faits observables, est celle de savoir si l'action du noyau dans la régénération se manifeste par des phénomènes *sensibles*, tels que des modifications dans sa forme ou sa situation à l'intérieur de la cellule. Chez toute une série de jeunes cellules ovulaires, observées dans différentes classes animales, Arthropodes, Cœlentérés, etc., Korschelt (1) a constaté que le noyau se mettait directement en communication avec les matériaux nutritifs qui pénètrent dans l'œuf, soit en changeant de position et se portant au-devant de ces matériaux, soit en augmentant sa surface de contact avec ceux-ci par la formation de pseudopodes plus ou moins nombreux. De même, dans les cellules de l'ovaire qui sont le siège d'une sécrétion, par exemple les cellules de l'épithélium folliculaire de quelques Hémiptères aquatiques (*Nepa* et *Ranatra*), le noyau émet de nombreux pseudopodes ramifiés vers les points qui sont le siège d'une sécrétion plus active de chitine. Haberlandt (2) a montré, de son côté, que dans un grand nombre de cellules végétales, au moment de la formation d'une cloison de cellulose ou du dépôt d'une couche plus abondante de cette substance sur un point de la paroi cellulaire, le noyau se rapprochait du lieu où la sécrétion doit se faire, pour s'en éloigner ensuite après que le dépôt s'est effectué. C'est aussi le lieu de rappeler les nombreuses observations qui ont été faites chez les animaux supérieurs sur les changements de forme, de volume ou de situation que le noyau subit au moment de la sécrétion dans un grand nombre de cellules glandulaires (3).

Pour en revenir à nos expériences de mérotomie, et plus spécialement sur le rôle du noyau dans la formation nou-

---

(1) Korschelt, Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Zellkerns. *Zoolog. Jahrbücher. Abth. für Anat. u. Ontologie*, t. IV, 1890.

(2) Haberlandt, Ueber die Beziehungen zwischen Function und Lage des Zellkerns bei den Pflanzen, 1887. — Ueber Einkapselung des Protoplasmas. *Sitzungsberichte der Kais. Akad. in Wien.*, 1889.

(3) La plus curieuse de ces modifications du noyau pendant la sécrétion est celle que Bela Haller dit avoir observée dans les organes dits *glandes à sucre* (glandes œsophagiennes) des Chitonides : les noyaux de ces glandes, incolores pendant l'état de repos, prendraient une coloration rouge brique intense au moment de la sécrétion (*Morpholog. Jahrbuch*, t. XIV, 1888).

velle des organes, j'ai essayé un grand nombre de fois de surprendre, chez divers Ciliés, des modifications soit dans la forme, l'aspect ou la situation du noyau pendant la néoformation des organes. J'ai employé pour cette observation les objectifs les plus forts (par exemple l'objectif à immersion homogène 1/18 de Zeiss), et jamais je n'ai pu surprendre le plus léger changement dans le noyau pendant que se formaient les organes nouveaux destinés à remplacer ceux qui avaient été enlevés par la section. Parmi ces organes, la formation du péristome nouveau chez les Stentors — formation si facile à suivre dans ses stades ultimes, à cause de leur rapidité relative, après que la première ébauche s'en est montrée sur le mérozoïte — offrirait certainement la meilleure occasion d'observer les changements actifs du noyau si ceux-ci devaient avoir lieu. Le noyau lui-même est facile à apercevoir, même lorsqu'il s'est concentré en un seul grain nucléaire, et le plus léger changement dont il serait le siège ne pourrait passer inaperçu. Or il reste absolument immuable pendant tout le temps nécessaire pour la succession des stades que j'ai décrits antérieurement (1) : cicatrisation de la plaie et formation de la nouvelle surface frontale striée par la multiplication par division des bandes granuleuses du triangle de Schuberg, production de la zone adorale nouvelle, etc. Ce n'est qu'au moment où le péristome nouveau, déjà bien formé avec la bouche qui le termine postérieurement, tend à quitter sa position latérale pour remonter vers le pôle antérieur et y occuper sa situation définitive, ce n'est qu'à ce moment, disons-nous, que le noyau semble sortir de son inertie apparente et présente les mouvements successifs de contraction et d'extension que j'ai décrits. Ces mouvements tardifs du noyau semblent par suite beaucoup plus en rapport avec la translation du péristome à la surface du corps qu'avec les processus de sa formation. Comme on les observe aussi aux stades correspondants de la division naturelle et des régénérations spontanées successives du péristome chez les individus normaux, phénomène que j'ai

(1) Voir dans la première partie, mes observations sur la mérotomie du *Stentor cœruleus*.

décrit dans un travail récent (1), ils paraissent avoir une grande importance physiologique dans la néoformation des organes, que celle-ci soit accompagnée ou non de la division du corps. En raison du moment de cette néoformation où se produit la contraction du noyau, j'ai supposé qu'elle avait lieu en vue d'exercer un effet dynamique plus considérable, en rapport avec les mouvements protoplasmiques qui donnent lieu à la translation du péristome nouveau vers le pôle antérieur du corps. Par la situation que cette masse nucléaire occupe vers le centre du corps, elle se trouve par le fait plus rapprochée des organes nouveaux que ne l'était le noyau avant sa concentration. Ce fait serait à rapprocher des observations de KORSCHELT et de HABERLANDT sur les déplacements du noyau, en vue d'une action nutritive ou sécrétoire à exercer dans la cellule. Par contre, le noyau m'a toujours paru occuper une situation quelconque dans l'intérieur du corps au moment de la formation même des organes. Il ne se modifie non plus en rien ni dans sa forme ni dans son aspect, comme je l'ai déjà dit ; par conséquent, s'il subit des changements quelconques, ceux-ci ne peuvent être que de nature moléculaire et par suite insaisissables à la vue (2).

Si nous récapitulons les faits que nous venons de passer en revue, nous pouvons en tirer cette conclusion générale que la vie cellulaire ne réside exclusivement ni dans le protoplasma, ni dans le noyau, mais résulte des rapports réciproques qui s'établissent entre ces deux éléments. Isolés l'un de l'autre, aucun d'eux n'est capable de vivre par lui-même : le protoplasma privé du noyau se dégénère au bout de quelques jours ou même de quelques heures ; le

---

(1) E.-G. BALBIANI, Sur les régénérations successives du péristome comme caractère d'âge chez les Stentors et sur le rôle du noyau dans ce phénomène. *Zoolog. Anzeiger*, n°s 372 et 393, 1891.

(2) Quelques auteurs se sont fondés sur ce que, pendant la sécrétion, le noyau ne présentait aucun changement appréciable à la vue pour lui dénier toute influence sur la sécrétion : ainsi VAN GEHUCHTEN chez les cellules épithéliales glandulaires de l'intestin moyen du *Ptychoptera contaminata* (*La Cellule*, t. VI, 1er fasc., p. 277, 1890 ; — *Anat. Anz.*, t. VI, n° 1, 1891). Chez les Protozoaires, rien n'est plus certain que l'influence exercée par le noyau sur la sécrétion intracellulaire et la régénération des organes, comme le prouvent les faits de mérotomie, et pourtant rien ne trahit à l'observation directe cette double influence du noyau.

noyau isolé du protoplasma vit encore moins longtemps et s'altère presque instantanément au contact de l'eau. Sous ce rapport, les expériences de Verworn sur les Radiolaires, expériences dont nous avons rendu compte dans la partie historique de ce travail, sont particulièrement instructives. Elles nous montrent que le corps protoplasmique d'où l'on a extrait la capsule centrale, qui renferme le noyau, ne tarde pas à entrer en dégénérescence et à se détruire, exactement comme font les fragments sans noyau dans les expériences sur les Infusoires ciliés. Inversement, le noyau, extrait de la capsule centrale et complètement débarrassé de la couche de protoplasma (endoplasme) qui l'entoure dans la capsule, se détruit, après son isolement, non seulement au contact de l'eau, mais encore lorsqu'on l'introduit dans le corps protoplasmique d'un autre individu. Si, au contraire, on conserve le noyau dans la capsule centrale, au milieu de la couche de plasma que celle-ci renferme, non seulement il demeure à l'état viable, mais il détermine la régénération de la capsule en un Radiolaire complet (1).

Un point sur lequel mes prédécesseurs n'avaient pas porté leur attention, au moins d'une façon suffisante, est celui de la quantité de substance nucléaire nécessaire pour déterminer la régénération. Gruber ayant, chez un certain nombre de Stentors, séparé par section la partie postérieure du corps et isolé celle-ci, constata le lendemain les résultats suivants : quelques-unes de ces extrémités s'étaient régénérées en Stentors complets avec péristome, bouche et œsophage ; chez un certain nombre d'autres, la régénération était en train de se faire, mais n'était pas encore terminée ; chez une troisième partie enfin, la plaie s'était refermée, les animalcules nageaient de tous côtés comme les autres, mais aucune régénération

---

(1) En rapportant cette dernière expérience de Verworn dans l'historique de notre travail, nous avons omis de dire que la régénération de la capsule centrale isolée en un Radiolaire bien formé avait déjà été observée par Anton Schneider, Zur Kenntniss des Baues der Radiolarien (*Arch. f. Anat. u. Physiol.*, 1867, p. 509), et confirmée par Cienkowsky (Ueber Schwärmerbildung bei Radiolarien. *Arch. f. mikrosk Anat.*, t. VII, 1871, p. 372) et R. Hertwig (*Zur Histologie der Radiolarien*, 1876).

n'avait eu lieu. L'examen à l'aide des réactifs montra que les premiers, complètement régénérés, renfermaient un noyau normal, en forme de chapelet ; que ceux dont la régénération avait été retardée ne contenaient qu'une petite portion du noyau normal ; et, enfin, que les fragments où aucune régénération n'avait eu lieu étaient complètement dépourvus de noyau (1). D'après cette observation, il y aurait donc un rapport direct entre la quantité de substance nucléaire renfermée dans les fragments et la rapidité de la régénération.

J'ai cité plus haut une de mes observations dont les résultats ne s'accordent pas avec ceux de Gruber. Un Stentor ayant été divisé transversalement en trois fragments, un antérieur contenant un chapelet nucléaire de 6 grains, un moyen ne renfermant qu'un seul grain, et un postérieur de 4 grains (2), tous les trois étaient complètement régénérés le lendemain en Stentors complets, et, bien que le fragment moyen à un seul grain nucléaire dût subir des transformations beaucoup plus nombreuses et plus profondes que les deux autres, sa régénération s'était faite dans le même temps que ceux-ci, et il était devenu un Stentor aussi parfait que ces derniers, seulement plus petit, en raison de la différence de taille que présentaient les trois fragments au moment de la section. Ajoutons que son unique grain primitif s'était transformé dans le même temps en son chapelet nucléaire de 5 grains, qui était, proportion gardée, presque aussi développé que le chapelet de 6 articles de l'individu postérieur (3). Dans d'autres expériences analogues, le grain unique était renfermé dans un fragment postérieur ou un fragment longitudinal du corps, et les résultats ont toujours été les mêmes.

Nous devons conclure de ces faits que la quantité de substance nucléaire n'exerce aucune influence ni sur le degré de perfection ni sur la marche de la régénération, et qu'un simple article du noyau se comporte à cet égard comme le

---

(1) A. Gruber, Beiträge zur Kenntniss der Physiol. u. Biol. der Protozoen. Separat-Abdruck aus : *Berichte der naturforsch. Ges. zu Freiburg i. B.*, t. I, p. 15, 1886.

(2) Voy. fig. 2, pl. 1 de la première partie.

(3) Voy. même planche, fig. 2, m^3, p^4.

noyau tout entier. Il y aurait à tirer de cette conclusion des déductions intéressantes sur le rôle du noyau dans la fécondation et le développement de l'œuf, ainsi que pour les questions d'hérédité. Là aussi nous voyons de très petites quantités de substance nucléaire, soit de l'élément mâle, soit de l'élément femelle, ou des deux éléments combinés, déterminer dans le protoplasma de l'œuf de profondes modifications qui rentrent sans difficulté dans le domaine des faits de régénération.

Mais une réflexion, à ce sujet, vient immédiatement à l'esprit : si une si petite quantité de substance nucléaire suffit pour provoquer des effets aussi importants dans le protoplasma, pourquoi le noyau des Ciliés n'est-il pas toujours réduit à son minimum de volume, comme l'est le petit noyau sphérique ou ovalaire que présentent beaucoup d'espèces, tandis que dans un non moins grand nombre d'autres le noyau constitue un organe volumineux, en forme de cordon, de chapelet ou même d'un long boyau dont les nombreuses circonvolutions s'étendent dans toutes les parties du corps ? Pourquoi encore les noyaux nombreux du *Loxodes rostrum*, des Opalines et de quelques autres Ciliés ? On peut se poser la même question pour les autres organismes unicellulaires, et même pour toutes les cellules en général, car il est plus que probable que les propriétés physiologiques du protoplasma et du noyau sont les mêmes à quelque ordre de cellules que nous ayons affaire.

Comme j'ai surtout en vue ici l'action plastique du noyau, c'est-à-dire l'influence qu'il exerce sur les processus formatifs du protoplasma, c'est pour eux seuls que j'ai pu constater cette indifférence de la masse du noyau pour la reconstitution morphologique de la cellule. J'ignore par conséquent si pour les autres fonctions, telles que les sécrétions, les échanges de matière entre le noyau et le protoplasma, etc., il n'existe pas un rapport entre la masse du noyau et l'énergie de l'influence qu'il exerce dans la cellule. Pour les sécrétions notamment, Heinrich Meckel (1) avait déjà supposé que le grand noyau

---

(1) H Meckel, Mikrographie der Drüsenapparate einiger niederer Thiere. *Müller's Archiv*, 1846, p. 1.

ramifié des cellules séricigènes des Lépidoptères avait pour but de transporter son influence sécrétoire dans toutes les parties du protoplasma, et Chun (1) considère même cette forme du noyau comme caractéristique pour toutes les cellules glandulaires des Insectes. Enfin j'ai rapporté plus haut les observations de Korschelt sur l'augmentation de surface du noyau par la formation de pseudopodes dans les cellules épithéliales de l'ovaire des Hémiptères aquatiques. Ces faits, qu'il me serait facile de multiplier, semblent donc prouver qu'il y a une relation entre le volume du noyau et l'énergie de la fonction sécrétoire. Cette relation nous fait comprendre aussi pourquoi le grain nucléaire, qui a suffi pour provoquer la régénération du mérozoïte médian dans l'expérience que j'ai rappelée plus haut, se transforme plus tard en un noyau moniliforme chez l'individu complètement régénéré et recommençant à manger.

De même, chez les Stentors en voie de division naturelle, le noyau, après le stade de concentration de ses articles en une seule masse, s'allonge de nouveau en un cordon moniliforme, qui n'est pas uniquement destiné à se partager également entre les deux individus filles, mais aussi à porter l'influence du noyau dans une plus grande masse de protoplasma : la preuve en est que cette même transformation s'observe aussi chez les mérozoïtes en voie de régénérer leur péristome et chez les individus ordinaires lorsque le péristome se renouvelle plusieurs fois partiellement à différentes époques de l'existence. Or, dans ces deux derniers cas, il ne peut être question du partage du noyau entre deux individus nouveaux, puisque l'animal reste simple au lieu de se diviser ; mais on voit nettement la nécessité de porter l'influence du noyau dans une plus grande étendue de la cellule, puisque chacun des points de celle-ci peut être le siège d'un travail physiologique, d'une action nutritive ou sécrétoire.

Gruber avait supposé que la fusion des éléments

---

(1) C. Chun, Ueber den Bau, die Entwickelung u. physiologische Bedeutung der Rectaldrüsen bei den Insekten. *Abh. d. Senkenberg. naturf. Ges.*, t. X, 1875, p. 27.

nucléaires en une seule masse, au moment de la division, avait pour but de substituer le gouvernement d'un noyau unique à celui d'une multitude de noyaux, ce qui eût produit une confusion dans les phénomènes du développement (1). Cette explication ne saurait être admise pour les raisons suivantes :

1° Les éléments nucléaires qui se confondent temporairement en une masse unique ne représentent pas autant de noyaux distincts, et par conséquent jouissant d'une influence propre, mais sont des parties d'un seul et même noyau à contenu fragmenté ; conséquemment leur fusion n'a pas pour but de remplacer des noyaux multiples par un noyau unique, comme le suppose GRUBER ;

2° Chez les Ciliés qui ont réellement des noyaux multiples, indépendants les uns des autres, comme le Loxode par exemple, la division du corps a lieu sans fusion préalable de ces noyaux en un seul : ceux-ci se répartissent numériquement, et quelquefois d'une façon très inégale entre les deux nouveaux individus (2).

Je crois par conséquent que la seule explication rationnelle à donner de la fusion des articles du noyau fragmenté (en dehors du cas où cette fusion a lieu en vue de la division, et par conséquent pour réaliser un partage égal de la substance nucléaire entre les deux produits de la division) consiste à la mettre en rapport avec la fonction physiologique du noyau, c'est-à-dire à y voir un artifice destiné à concentrer son action sur le plasma à l'effet de réaliser un effort plus grand de sa puissance dynamique ou chimique, comme je l'ai supposé plus haut.

Une question d'une portée plus générale que soulève la pluralité des noyaux chez les Ciliés et les autres Pro-

---

(1) Cette coalescence des noyaux aurait en outre pour but, d'après GRUBER, de réaliser un partage égal de la substance nucléaire entre les deux individus filles. J'avais déjà émis cette opinion dès 1860 (*Journal de la physiologie de l'homme et des animaux*, t. III, p. 71, 1860).

(2) GRUBER prévient cette objection tirée de ce qui se passe chez le Loxode en disant qu'on peut se représenter les noyaux multiples de ce Cilié comme parfaitement identiques au point de vue de leur structure et de leurs fonctions. Non seulement cette identité n'est pas parfaite, mais en supposant même qu'elle le fût, celle qui existe entre les différents articles d'un même noyau n'est pas moindre, ce qui n'empêche pas leur fusion, comme on l'observe chez le Stentor, par exemple.

tozoaires est celle de sa signification pour la vie cellulaire de ces êtres. Malgré sa rareté chez les Ciliés, la pluralité des noyaux peut présenter quelques avantages pour l'individu. GRUBER (1) en a donné une interprétation assez séduisante. Leur fragilité expose souvent ces êtres à subir des déchirures ou autres lésions analogues qui compromettraient leur existence, mais ils échappent à une destruction complète parce que chaque fragment de leur corps a grande chance de renfermer un ou plusieurs noyaux, qui assurent sa régénération en un individu complet, le fragment sans noyau étant au contraire voué à une mort certaine et rapprochée. On peut ajouter à cette explication que l'état plurinucléaire est avantageux pour l'espèce elle-même puisque la cause qui menace l'existence d'un seul en appelle un plus ou moins grand nombre d'autres à la vie. Il va sans dire que le même avantage est attaché à la possession d'un noyau unique à contenu fragmenté, et que plus les fragments sont petits et nombreux plus l'individu et son espèce en recueillent de bénéfice. Pour justifier cette manière de voir, je rappellerai mes observations sur le *Dileptus Anser*, espèce à noyau très divisé, dont chaque fragment, si petit qu'il soit, est capable de se régénérer parce qu'il contient presque sûrement quelques grains nucléaires. Il en est de même du *Loxodes rostrum*, qui renferme une vingtaine et plus de noyaux isolés, capables d'assurer la régénération d'un même nombre de fragments du corps.

J'ai réservé, pour en parler en dernier lieu, le *Paramæcium Aurelia*, qui forme un contraste remarquable, au point de vue d'une des principales propriétés du noyau, avec toutes les autres espèces dont il a été précédemment question. En effet, par une exception singulière, le noyau du *P. Aurelia* a perdu presque complètement son influence sur la régénération, mais il a conservé toutes ses autres fonctions vitales. Les fragments qui ont conservé l'ancien noyau ou une portion de celui-ci ne réparent pas, comme chez les autres Ciliés, la perte de substance qu'ils

(1) GRUBER, Weitere Beobachtungen an vielkernigen Infusorien. *Berichte d. naturforsch. Ges. zu Freiburg i. B.*, t. III, 1887, p. 57.

ont subie: même au bout de plusieurs semaines on n'observe chez eux aucune trace de régénération. Ce n'est que lorsque la lésion est légère et n'a emporté qu'une petite partie d'une des extrémités du corps, principalement de l'extrémité postérieure, sans intéresser le noyau, que, grâce à une nourriture abondante, qui provoque de fréquentes bipartitions, on voit la perte de substance se réparer peu à peu dans les générations issues les unes des autres, et dont les dernières finissent par présenter un aspect parfaitement normal. Lorsque la lésion est plus profonde, et probablement aussi lorsqu'elle a intéressé le noyau, on voit quelquefois survenir un trouble dans la multiplication par division, trouble consistant en une séparation incomplète des générations, qui forment des agrégats composés d'un plus ou moins grand nombre d'individus. Ceux-ci se fusionnent ensuite plus ou moins complètement, surtout dans la partie centrale de l'espèce de colonie ainsi produite, et constituent ainsi une masse irrégulière, où l'on ne reconnaît plus que difficilement les individualités composantes.

Ces agrégats finissent toujours par mourir au bout d'un temps plus ou moins court, et, au moyen des réactifs, on reconnaît dans leur intérieur un gros noyau irrégulier, qui paraît formé des noyaux individuels confondus, comme l'étaient les corps eux-mêmes des individus composant la colonie. Chez nulle autre espèce de Ciliés je n'ai observé de phénomènes analogues. Chez quelques formes voisines du *P. Aurelia* (*P. bursaria*, *Colpidium* [*Paramæcium*] *Colpoda*), la faculté de régénération paraît sinon abolie, du moins diminuée dans une certaine mesure : c'est là tout ce que l'insuffisance de mes observations sur ces espèces m'a permis de constater.

Je ne veux pas terminer ce qui se rapporte à nos agrégats artificiels de Paramécies sans faire une comparaison avec certaines colonies naturelles qu'on observe chez les Ciliés. Je veux parler de ces chaînes d'individus placés bout à bout qu'on a décrites chez quelques espèces de la famille des Opalinides (*Anoplophrya nodulata Hoplitophrya secans*, *Discophrya gigantea*, *Opalinopsis elegans*, etc.). Malgré la différence d'origine, puisque nos

agrégats sont des productions artificielles, tandis que les espèces précitées forment des assemblages d'individus parfaitement normaux et naturels, je crois qu'il y a lieu de faire un rapprochement entre les uns et les autres.

Le mode de formation de ces groupes d'individus est le même : ils dérivent dans les deux cas d'une scissiparité ou d'un bourgeonnement incomplet. Il est vrai qu'il y a cette différence que dans les chaînes d'Opalinides les nouveaux individus se forment tous dans l'axe de l'organisme parent, c'est-à-dire suivant une direction linéaire, tandis que dans nos agrégats artificiels les premiers formés seuls affectent cette disposition, qui bientôt devient de plus en plus irrégulière, les individus nouveaux naissant alors de tous les points de la colonie. Théoriquement, les choses devraient se passer ici comme chez les Opalinides, si rien ne venait modifier les lois de la division transversale, qui est chez les Paramécies, comme chez les Opalinides, le mode normal de multiplication. Les Paramécies aussi, en supposant que tous les individus filles restent réunis, ne devraient former qu'une chaîne d'individus placés à la file, comme chez les Opalinides. Mais les déplacements que les individus filles subissent les uns par rapport aux autres, et surtout les fusions plus ou moins étendues qu'ils contractent entre eux viennent bientôt déranger leur disposition sériale et donner naissance à ces amas irréguliers d'individus que nous avons décrits. Mais ces troubles de la multiplication ne sont en quelque sorte que des faits secondaires tenant à ce que l'organisation ne s'est pas encore adaptée à ce mode de reproduction coloniale ; ils ne changent rien à la nature même du phénomène, que nous voyons s'accomplir d'une façon parfaitement normale et naturelle chez certains Ciliés.

Une autre circonstance qui rapproche les colonies artificielles et les colonies naturelles des Ciliés est la condition du monde extérieur sous l'influence de laquelle elles se forment. Cette condition est une alimentation très abondante. Nous l'avons vu pour les Paramécies dont les fragments ne produisent des colonies que lorsqu'ils sont placés dans un milieu très riche en nourriture, tandis que dans un milieu appauvri ils peuvent rester un temps

indéfini sans se multiplier ni se régénérer. Quant aux Opalinides qui forment ces colonies naturelles d'individus placés à la file, elles mènent toutes une vie parasitaire, pour la plupart dans le tube digestif de leurs hôtes, et se trouvent par conséquent dans les mêmes conditions d'alimentation abondante que les Paramécies de nos expériences. Il est assez difficile d'indiquer quelle sorte d'influence cet excès de nourriture exerce chez les unes et les autres sur le mode de reproduction. Pour les Paramécies, je crois pouvoir l'expliquer par l'hypothèse suivante, que je fonde sur quelques-unes de mes observations.

Nous avons vu que dans la reproduction par division, cette division pouvait commencer sans le concours du noyau, mais que ce concours était nécessaire pour achever la division et amener la séparation complète des deux individus filles. Or chez nos agrégats artificiels de Paramécies, comme dans les chaînes naturelles des Opalinides, c'est par suite d'une division incomplète de l'organisme parent que les divers individus composants restent réunis les uns aux autres au lieu de se séparer comme chez les autres espèces de Ciliés. La cause de cette division incomplète est probablement due à ce que le noyau, qui intervient, comme nous l'avons vu plus haut, dans les derniers stades de la division, a perdu son pouvoir pour achever la division, que le protoplasma seul est incapable de mener jusqu'au bout. Quant à la perte de l'influence du noyau sur la division, je crois pouvoir l'attribuer à l'hypertrophie que subit cet élément dans un milieu où surabondent les principes nutritifs, à une stérilisation du noyau par excès de nutrition. Il suffit en effet d'examiner les agrégats de Paramécies représentés dans nos figures 41 et 43 pour s'assurer que l'espèce de noyau colonial que renferment ces agrégats est beaucoup plus volumineux que le noyau d'un individu ordinaire simple Est-ce également à une hypertrophie, due ici à la vie parasitaire, qu'on doit attribuer le grand volume du noyau de quelques Opalinides qui forment des chaînes de rejetons (*Anoplophrya*, *Haptophrya, Opalinopsis*)? C'est ce que je n'oserais affirmer, non plus que cette hypertrophie soit la cause du mode de reproduction de ces espèces. C'est là une question qui ne

pourra être résolue que lorsque nous aurons une connaissance plus approfondie du rôle du noyau dans la multiplication cellulaire.

Je termine l'histoire de ces anomalies de la reproduction chez les Ciliés en rapportant une observation qui démontre que ce n'est pas seulement sous l'influence d'une lésion mécanique qu'on peut observer la formation de ces agrégats d'individus.

Le 20 décembre, j'isolai sur une lame de verre une Paramécie qui s'était conjuguée la veille. Cette Paramécie était d'abord petite et grêle, mais ayant reçu une abondante nourriture consistant en Monades développées dans une infusion de foin préparée à chaud, elle grossit et grandit beaucoup, mais ne se divisa pour la première fois que le 29, et l'un des deux nouveaux individus produits se divisa à son tour le 1er janvier. Les trois Paramécies continuèrent à être bien nourries des mêmes Monades du foin et acquirent en peu de jours une grosseur relativement énorme, que j'évalue à plus du double de la taille normale de l'espèce. Deux de ces Paramécies moururent indivises au bout de quelques jours, mais la troisième produisit, le 10 janvier, deux rejetons, dont l'un n'avait rien de particulier, tandis que l'autre présentait une forme insolite. C'était celui formé par la partie postérieure de l'individu mère. Il était fortement élargi en avant où il se terminait par trois gros prolongements coniques. Il renfermait un noyau volumineux et bien constitué. Le 12, sa forme était devenue plus monstrueuse encore, car il portait à sa partie antérieure une grosse masse irrégulièrement plissée et lobée ; la partie postérieure représentait au contraire une Paramécie presque complètement normale. Cette conformation résultait évidemment de ce que notre animal avait voulu se diviser, mais n'était pas parvenu à se séparer en deux parties ; l'une, la postérieure, était restée presque normale, tandis que l'autre, l'antérieure, avait pris une forme monstrueuse. On reconnaît en effet dans chaque partie une bouche et des vésicules contractiles entourées de leur système de canaux rayonnants. Le 22, la masse antérieure s'est encore compliquée dans sa structure : les lobes et les sillons qui les séparent sont devenus plus nombreux ; il me semble y recon-

naître alors deux bouches, qui avec celle de l'individu postérieur forment un total de trois bouches pour l'ensemble de notre sujet. Comme il donne à ce moment des signes d'affaiblissement, dans la crainte qu'il ne vienne à se détruire, ce qui m'eût empêché d'examiner le système nucléaire, je me décide à le fixer. En conséquence, il est traité par une solution d'acide osmique à 1 0/0, puis par le vert de méthyle acidulé. Ces réactifs mettent en évidence dans chaque portion composant notre monstre une masse volumineuse, colorée d'une manière intense en vert. Dans la portion postérieure, formée par un individu unique, la masse nucléaire est simple, son contour arrondi et net, sa surface à peine traversée par quelques sillons, mais dans le centre on aperçoit un espace sphérique clair, dont le milieu est occupé par un petit globule coloré en vert, semblable à un nucléole. Le diamètre de ce noyau est de $0^{mm},09$. Le corps antérieur, formé d'au moins deux individus confondus, renferme un noyau beaucoup plus volumineux ou plutôt une masse nucléaire irrégulière, composée de trois masses secondaires inégales pressées les unes contre les autres, à surface fortement bosselée et mamelonnée. Ce gros noyau composé présentait une grande ressemblance avec celui que j'ai observé dans les agrégats de Paramécies formés à la suite de mes expériences (II, *fig.* 43, *G*, *n*). Ajoutons, pour terminer la description de notre sujet, que le plasma ne contenait que de nombreux dépôts de produits de sécrétion en forme de granulations foncées et de corpuscules cristalloïdes rectangulaires, qui existaient aussi dans les agrégats précités aux derniers temps de la vie.

L'observation qui précède semble donc indiquer que des agrégats d'individus formés par division anormale d'un organisme unique, semblables à ceux que j'ai produits artificiellement par mérotomie, peuvent se former aussi spontanément, principalement sous l'influence d'une nutrition très abondante. Ces agrégats, contrairement aux précédents, peuvent-ils rester viables et se propager sous cette forme? Cela me paraît douteux, car aucun observateur n'en a encore signalé l'existence, mais on peut se demander si à une époque antérieure ils n'ont pas pu rencontrer dans le monde ambiant des conditions

qui ont favorisé leur pérennité, comme nous le voyons pour quelques-unes des espèces parasites actuelles de Ciliés. La question ne me paraît pas indigne d'être posée ici sous forme d'une simple hypothèse.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1° Chez les Infusoires ciliés, qui peuvent être considérés comme un type des plus favorables pour l'étude physiologique des cellules, certaines fonctions sont remplies par le protoplasma seul et d'autres concurremment par le protoplasma et le noyau.

2° Les fonctions qui dépendent uniquement du protoplasma sont :

a. Les différentes formes de mouvement : mouvement ciliaire, mouvement d'ingestion et d'égestion des aliments (mouvements de la bouche et de l'anus), les pulsations de la vésicule contractile, le mouvement de constriction du corps au commencement de la division ;

b. La faculté d'orientation du corps pendant la progression.

3° Les fonctions qui sont exercées concurremment par le protoplasma et le noyau sont :

a. Les diverses sécrétions cellulaires : sécrétion de la cuticule, sécrétion du suc acide dans les vacuoles alimentaires, et peut-être aussi des autres sucs digestifs ;

b. La régénération ou reconstitution des organes et de la forme générale du corps ;

c. Les stades ultimes de la division.

4° Il n'y a pas d'antagonisme entre le protoplasma et le noyau : des rapports réciproques qui existent entre ces deux éléments de la cellule résulte une action harmonique qui maintient leur vitalité et assure l'intégrité de leurs fonctions.



E. G. Balbiani del. E. Oberlin. lith.

MÉROTOMIE DU PARAMÆCIUM AURELIA.

IMP. A. JANNIOT & Cie PARIS.





E.G.Balbiani del.

MÉROTOMIE DE DIVERS CILIÉS

Ed.Oberlin lith.

Imp. Edouard

EXPLICATION DES FIGURES DES PLANCHES I ET II

Nota. — Les numéros des figures continuent ceux des figures de la première partie du Mémoire et sont disposés comme pour ces dernières. (Voir la remarque en tête de l'explication des planches de la première partie.)

Fig. 25 (I). — *Stentor igneus* divisé transversalement en deux fragments, dont l'antérieur a est sans noyau, et le postérieur b contient le noyau tout entier n. Ce dernier fragment b^1 s'étant, quelques instants après la section, énucléé spontanément par la plaie b^2, on eut ainsi deux fragments sans noyau qui, au bout de trois jours, se sont détruits sans présenter aucune trace de régénération. On voit dans la figure a^3, représentant le fragment antérieur a déjà très dégénéré, la disposition qu'y avaient prise les globules de *Zoochlorella* ; v, vacuole aqueuse.

Fig. 26 (I). — *Stentor igneus* dont la partie antérieure, convexe, du péristome a a été retranchée par une section ; $a^1 a^2$, modifications de forme de la partie retranchée avant de se détruire par dégénérescence $b^1 — b^5$; le restant du corps contenant le noyau n et la vésicule contractile vc en voie de reproduire la portion enlevée du péristome. Aux derniers stades de cette régénération, il offre une gibbosité latérale b^3, b^4, qui disparaît chez le Stentor complètement régénéré b^5.

Fig. 27 (I). — Stentor de même espèce coupé en un fragment antérieur a qui contient le noyau, et un fragment postérieur b sans noyau. a^1, a^2, aspects divers du fragment nucléé avant sa régénération en un petit Stentor complet a^3 ; b^1-b^3, changements de forme du fragment non nucléé avant sa dégénération ; on voit déjà, v, une première vacuole annonçant l'imbibition aqueuse du plasma.

Fig. 28 (I). — *Loxodes rostrum* dont la partie antérieure en forme de bec a été enlevée par une section. Cette partie, qui contenait plusieurs vésicules de Müller avec un seul noyau n, s'est régénérée, à la partie postérieure près, en un petit Loxode complet. Le grand fragment postérieur b, contenant tous les autres noyaux, s'est refait un nouveau rostre, qui, en même temps, a recomplété la bouche, b^1-b^3.

Fig. 29 et 30 (I). — Autres exemples de régénération de fragments contenant des noyaux, chez le Loxode. Chez le fragment b (*fig.* 29), un grain alimentaire i est resté sans se modifier dans le fragment pendant toute la durée de la régénération.

Fig. 31 (I). — Loxode traînant à sa partie postérieure un large lambeau du corps x résultant d'une section incomplète ; le lambeau renferme au moins un des nombreux noyaux de l'animal. Après s'être détaché du corps, ce fragment prend peu à peu la forme d'un petit Loxode, x^1-x^5, auquel il ne manque plus que la bouche pour représenter un individu complet. Plusieurs vésicules de Müller se sont formées au bord convexe du rostre, comme chez les individus normaux.

Fig. 32 (I). — Loxode divisé en trois portions, dont la postérieure p s'est détruite presque aussitôt, tandis que les deux autres a et m ont continué à vivre et se sont régénérées en individus complets. Chez la portion antérieure, cette régénération s'est faite sans présenter de phénomènes particuliers a^1, a^2. Elle a présenté plus de complications chez la portion moyenne m. Au cours de la régénération de m, dont les figures $m^1 — m^7$ représentent les diverses phases, il s'est produit à la partie antérieure de la face ventrale du fragment m^1 un prolongement x, qui s'est transformé pour son compte en un petit Loxode bien reconnaissable,

tout en restant attaché à la portion principale. On peut suivre sur les figures m^1 — m^6 les phases de cette transformation jusqu'au moment où le petit individu se détache du grand. Devenu alors libre, le petit mène pendant assez longtemps une vie indépendante; mais, comme il est dépourvu de bouche, il finit par mourir d'inanition. Le grand individu lui-même m^7 ne tarde pas à présenter des signes de décrépitude m^8. Le traitement par les réactifs montre que la plupart des noyaux qu'il renfermait au début ont disparu.

Fig. 33 (I). — *Fabrea salina*, montrant les divers détails de son organisation. *b*, bouche ; *vc*, vésicule contractile ; *t*, tache pigmentaire du bord gauche du péristome ; *n*, noyau rubané ; *v*, *v*, *v*, vacuoles du plasma, dont la plus rapprochée de l'anus renferme quelques granules excrémentitiels près d'être expulsés.

Fig. 34 (I). — *Fabrea* divisée en un segment antérieur *a* et un segment postérieur *b*, contenant chacun une portion du noyau coupé. Presque aussitôt après la section, le noyau de *a*, hernié par la plaie, a^1, s'est rompu *n* au niveau de celle-ci, et il n'en reste plus qu'une petite portion dans l'intérieur du plasma. Ce fragment nucléaire suffit pour déterminer la régénération du segment, a^2, a^3. Dans le segment postérieur *b*, l'énucléation par la plaie ayant été complète, aucune régénération n'a eu lieu et le segment se détruit par dégénérescence après avoir pris la forme globuleuse, fréquente chez les segments sans noyau, b^1 b^3. On voit cependant que la vacuole anale *v* a pu laisser échapper une partie des matières excrémentitielles qu'elle contenait.

Fig. 35 (I). — Autre individu dont le péristome a été en grande partie retranché, et ayant perdu une certaine longueur du noyau par la plaie b^1. Les figures b^2 — b^4 montrent qu'il s'est bien régénéré, et que la tache pigmentaire s'est reproduite sur le nouveau péristome.

Fig. 36 (II). — Individus de *Paramæcium Aurelia*, sectionnés à une distance plus ou moins considérable de l'extrémité antérieure du corps. Les fragments *a*,*b*,*c*, contiennent le noyau primitif tout entier ; chez *d*, il ne reste qu'une petite portion du noyau qui a pris une forme arrondie ; on voit au bord de la section une petite échancrure représentant le bord postérieur de la bouche ; *e*, fragment postérieur du corps sans trace de bouche ni de noyau.

Fig. 37 (II). — *a*, *b*, *c*, *d*, fragments antérieurs de *P. Aurelia* contenant le noyau primitif ou une portion plus ou moins considérable de celui-ci ; *e*, fragment antérieur sans noyau ; *f*, fragment avec noyau d'un individu coupé à ses deux extrémités.

Fig. 38 (II). — Mérozoïte postérieur nucléé, en voie de division : il se divise une première fois en un rejeton antérieur *a* et un rejeton postérieur *p*. Les petites figures suivantes représentent quelques-unes des divisions successives de l'individu antérieur *a* jusqu'à la 10e. a^1, p^1, première division de *a* ; a^2, p^2, deuxième division ; a^3, p^3, troisième division, etc. A la dixième division, le rejeton antérieur est devenu presque complètement normal.

Fig. 39 (II). — Multiplication par division d'un fragment antérieur. Une première division donne les individus filles a^1 et p^1, et a^2 donne à son tour les deux divisions a^2, p^2 et a^3, p^3. On voit qu'à la troisième génération l'individu postérieur p^3 a pris un aspect parfaitement normal.

Fig. 40 (II). — Groupe de Paramécies intactes et de Paramécies sectionnées ingérant des grumeaux d'alizarine violette. Chez les Paramécies entières, *a*, *a*, et les fragments contenant un noyau, *b*, *b*, *b*, les grumeaux se sont colorés en jaune orangé sous l'influence de la sécrétion acide des vacuoles d'ingestion. Des trois petits fragments sans noyau, *c*, *c*, *c'*, celui qui est muni d'une bouche, *c'*, a seul ingéré de l'alizarine, et celle-ci a conservé sa coloration violette, preuve de l'absence de sécrétion acide dans les vacuoles.

Fig. 41 (II). — A-H, série de figures montrant la formation successive d'un agrégat de trois ou quatre Paramécies résultant des divisions incomplètes

d'un mérozoïte ; *bo*, bouches ; *vc*, vésicules contractiles. La figure 1 montre l'agrégat H après son traitement par les réactifs, qui mettent en évidence deux masses nucléaires *n* et *n'*, représentées à côté isolées et plus grossies.

Fig. 42 (II). — Formation d'un autre agrégat de Paramécies, ayant pour point de départ le mérozoïte postérieur A. — B, première division anormale de ce mérozoïte. Les deux rejetons *a*, *p* ne pouvant se séparer l'un de l'autre continuent à se diviser dans cette situation. Les rejetons nouveaux, à mesure qu'ils se multiplient, se fusionnent entre eux en une masse irrégulière E-G, dans laquelle on aperçoit çà et là les bouches et les vésicules contractiles des individus composants. La difformité de l'agrégat est encore accrue par les prolongements en forme de pointes plus ou moins aiguës qui se produisent sur différents points de la masse commune.

Fig. 43 (II). — A-F, figures montrant les états d'accroissement successif par division d'un mérozoïte semblable à celui A de la figure 42. Dans les derniers stades, D-F, on voit à la partie postérieure de l'agrégat quelques individus ayant la forme de Paramécies presque normales, dont plusieurs se séparent de la masse commune pour devenir libres. Un de ces individus libres est vu en H ; il est dépourvu de noyau et ne renferme qu'un petit corps strié semblable à un micronucléus. La figure G montre l'agrégat F après traitement par les réactifs, qui mettent en évidence dans la masse commune un gros noyau mamelonné et un micronucléus strié *m* placé à une certaine distance de celui-ci.

Fig. 44 (II). — Série de figures montrant les diverses générations par division d'un mérozoïte postérieur A. Au cours de la quatrième génération, il se produit sur l'individu antérieur Ga^4 un prolongement anormal en forme de corne, qui persiste dans les générations subséquentes en reculant de plus en plus vers la partie postérieure du corps.

DU POUVOIR STÉRILISANT DES FILTRES EN BISCUIT

PAR

Le Dr P. MIQUEL

Dans un travail très consciencieux que M. de Freudenreich a publié dans le *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde* et dans ces *Annales*, tome IV, page 559, on a vu que les bactéries peuvent traverser les bougies en biscuit dans des laps de temps variant avec les conditions extérieures.

Sur le vœu de la Commission d'assainissement et de salubrité de l'habitation, j'ai, vers la même époque, exécuté plusieurs séries d'expériences en vue d'apprécier si les affirmations des constructeurs étaient rigoureusement exactes, c'est-à-dire si les appareils formés d'éléments en biscuit pouvaient stériliser les eaux plus ou moins impures qu'on peut être appelé à y diriger. Les résultats de ces recherches ont été, en partie, consignés dans un rapport dont les conclusions ont été adoptées par la section permanente de la Commission d'assainissement et de salubrité de l'habitation (1). Depuis, j'ai appris que ce travail, qui

---

(1) Voici textuellement les conclusions de ce rapport :

En présence de ces inconvénients si divers, le soussigné estime qu'il est plus prudent d'alimenter uniquement les écoles de la ville de Paris avec de l'eau de source. Dans le cas où une nécessité impérieuse obligerait d'y diriger momentanément des eaux de rivières, il serait indispensable que ces dernières fussent stérilisées par la chaleur ou par d'autres procédés non moins rigoureux.

Voici maintenant le compte rendu analytique de la séance de la Commission d'après le procès-verbal de la séance du 3 décembre 1892, publié dans le *Bulletin municipal officiel de Paris* le 11 décembre 1892 (pages 2857-2858) :

COMMISSION D'ASSAINISSEMENT ET DE SALUBRITÉ DE L'HABITATION
(SECTION PERMANENTE)

Procès-verbal de la séance du 3 *décembre* 1892

Présidence de M. A. Menant, directeur des Affaires municipales, délégué par M. le Préfet.

M. MIQUEL rend compte des études qu'il avait mission de faire au sujet des

n'a pas été publié en raison de sa nature confidentielle et des noms propres qu'il renfermait, a été exploité contre les filtres de biscuit, qui restent jusqu'ici les filtres les plus parfaits que l'on connaisse, mais qui, comme tous les

---

filtres à bougie de porcelaine pour la filtration des eaux dans les établissements scolaires. Il résulte des expériences réitérées que, si ces bougies retiennent au moins au début de leur fonctionnement les bactéries contenues dans les liquides de culture les plus fortement infectés, il faut reconnaître qu'elles ne s'opposent pas longtemps à leur passage, surtout quand l'extérieur des bougies s'est recouvert d'un mucus vaseux très putrescible, constituant autour d'elles un véritable milieu de culture.

Suivant toutes probabilités, les bactéries peuvent alors traverser les filtres en biscuit, grâce à leur multiplication possible de proche en proche à travers les substances poreuses filtrantes, et les traverser de part en part dans un laps de temps plus ou moins long.

La rapidité de cette infection se trouve soumise : 1° à l'action de la température ambiante qui favorise pendant les saisons chaudes la pullulation des bactéries ; 2° à l'influence de la nature des eaux plus ou moins favorables au développement des microphytes; 3° enfin elle dépend de la pression qui, d'après quelques auteurs, favoriserait le passage de ces mêmes organismes inférieurs.

Enfin la fragilité des filtres en porcelaine, la possibilité de fuites aux joints de caoutchouc, la variabilité du grain de la pâte filtrante, la difficulté de se rendre compte du fonctionnement sans recourir aux analyses bactériologiques, conseillent la plus grande prudence, l'emploi de précautions minutieuses dans l'usage habituel de ces bougies.

En résumé, et en ce qui concerne particulièrement les écoles, il est avant tout préférable de les alimenter d'eau de source, et, dans l'état actuel de la science, en cas de nécessité impérieuse, il paraît indispensable de recourir à la stérilisation par la chaleur.

M. le Dr Colin dit que des expériences analogues ont été faites au Val-de-Grâce; dans la pratique, les instructions du ministre de la Guerre ordonnent, dans les casernes où des filtres sont en usage, la désinfection des bougies soit par l'étuve, soit par l'eau bouillante.

MM. Dujardin-Beaumetz, Vaillant, Du Mesnil et Lévy échangent quelques observations à ce sujet, tout en proposant à la Commission d'accepter les conclusions du rapport de M. Miquel.

M. Vaillant insiste pour que la Commission saisisse cette occasion de s'occuper des filtres en usage dans les écoles et décide ce qu'il y a lieu de faire pour leur bon entretien, qui doit leur assurer leur efficacité.

M. Paul Viguier appuie la proposition. Il ne croit pas que les directeurs d'école aient le temps ni souvent même les moyens d'assurer la désinfection.

Après une courte discussion, à laquelle prennent part MM. Paul Strauss, Vaillant, Paul Viguier, Bouvard, la Commission décide que la surveillance et la désinfection des appareils en service devront être confiées à l'inspection générale de l'Assainissement, qui veillera à l'exécution des mesures à prendre.

M. Paul Strauss aurait voulu voir généraliser la question, qui lui semble d'intérêt supérieur ; il n'ignore pas que des expériences sont faites de toutes parts ; il a confiance que la science trouvera et que l'industrie réalisera de grands progrès dans cette voie. Et il est peut-être bon d'attendre le résultat de ces expériences, mais aussi de provoquer les efforts de l'industrie privée, par exemple en organisant un concours qui porterait sur la recherche de la meilleure méthode de stérilisation des eaux soit par les filtres, soit par la chaleur, ou par l'électricité même. Il serait temps alors de prendre une décision ferme.

M. Du Mesnil partage l'opinion de M. Paul Strauss Il ajoute qu'on pourrait déjà demander au ministère de la Guerre communication des expériences faites

appareils, présentent, avec des qualités, des défauts dont l'expérimentation peut seule déterminer l'étendue.

Voici bientôt dix ans que je manipule des bougies de biscuit, que j'essaye journellement les filtres plus ou moins bien conçus que l'industrie cherche à lancer dans le commerce; j'en ai expérimenté de toute espèce : les uns basés sur le pouvoir filtrant du sable, du charbon, de l'oxyde de fer et des pyrites pulvérisées, les autres formés d'éponges, de chiffons de laine et de coton, d'amiante, etc..., il m'a donc été permis de me faire à cet égard une opinion personnelle, et je vais aujourd'hui l'exprimer en ce qui concerne les filtres en biscuit. Je m'attacherai uniquement à exposer des faits incontestables, en évitant toute allusion pouvant être désagréable aux constructeurs, dont les efforts et la bonne volonté n'ont pas toujours été couronnés par le succès.

Pendant l'épidémie cholérique qui a régné l'an dernier à Paris, j'ai analysé les eaux filtrées par les systèmes A, B, C, D pourvus d'éléments en biscuit de forme très variée. Les systèmes A et B ont fonctionné sur la voie publique, les systèmes C et D sont restés dans les laboratoires de la ville de Paris.

Voici les résultats obtenus de juillet à septembre 1892 :

1° *Système A* (*Résultats moyens*)

Eau de Seine non filtrée.	18,000
» » filtrée.	34,875

2° *Système B* (*Résultats moyens*)

Eau de Seine non filtrée.	18,000
» » filtrée	1,325

3° *Système C*

Ce système est capable de retenir pendant 2 jours les bactéries de l'eau de l'Ourcq, puis les microorganismes passent en quantité innombrable.

---

au Val-de-Grâce, et au ministère de la Marine communication de celles qui ont été faites à Lorient sur la stérilisation des eaux par la chaleur.

M. Menant propose, conformément à l'avis émis par M. Paul Strauss, et qui paraît accepté par la majorité de la section permanente, de mettre à l'ordre du jour de la prochaine séance l'étude d'un programme de concours sur les meilleurs moyens économiques et pratiques de filtrer ou de stériliser les eaux d'alimentation.

4° Système D

Cet appareil ne stérilise même pas pendant 1 heure l'eau de la Seine.

Si ces divers filtres, tous formés d'éléments en biscuit, ont donné des résultats si divergents, il faut, sans aucun doute, en attribuer la cause à des vices de construction, car la pâte de porcelaine cuite et intacte présente des qualités stérilisantes indubitables, révélées par les recherches de MM. Pasteur et Gautier, et que constatent d'ailleurs tous les jours les bactériologistes appelés à séparer les microbes de leurs milieux liquides de culture. De semblables vices de construction, on voudra bien le reconnaître, ne devraient pas exister dans des appareils présentés à la ville de Paris comme des modèles de filtres stérilisants.

Les systèmes laissés de côté, si on étudie dans le laboratoire les éléments qui les composent, on remarque aisément que le pouvoir filtrant des bougies ne se conserve pas indéfiniment.

La durée du pouvoir filtrant efficace est surtout fonction de la nature des eaux.

Dans mes recherches, dont plusieurs datent de 1884, j'ai constaté : que l'eau de la Vanne peut être stérilisée par les bougies pendant l'espace d'un mois ; que l'eau de la Seine trouble peut passer non stérilisée au bout de 4 à 5 jours ; que, claire, elle peut, même en été, être purgée de germes pendant 8 jours ; mais que l'eau du canal de l'Ourcq, ordinairement trouble et beaucoup plus chargée d'impuretés de toutes sortes, est très difficile à purger de bactéries pendant plus de 48 heures, quelle que soit la pâte de porcelaine employée. Donc, plus l'eau est impure, et plus vite les bougies perdent leur pouvoir stérilisant.

Quand les eaux sont vives et courantes, les bougies les stérilisent pendant une période de temps beaucoup plus longue que lorsqu'elles sont stagnantes.

On a attribué à la pression un rôle important dans l'infection bactérienne, qui progresse de proche en proche dans le biscuit ; je ne partage pas entièrement cette opinion, car sous une faible pression, et même sous une pression

nulle, plusieurs bactéries traversent facilement la porcelaine.

La progression se fait ordinairement par voie de culture ; une des précautions importantes au bon fonctionnement d'une bougie est donc d'empêcher la formation sur la porcelaine de ces dépôts vaseux que charrient les eaux impures. C'est, certainement, à ce fait qu'est due la difficulté de stériliser en été, pendant lontemps, l'eau du canal de l'Ourcq, alimentant encore quelques immeubles parisiens.

De plus, toutes les bactéries ne traversent pas la porcelaine avec la même facilité : certains petits bacilles ou bactériums et microcoques vulgaires peuvent parcourir en 3 et 4 jours l'épaisseur d'une bougie ordinaire placée dans les conditions favorisant le plus puissamment l'infection, c'est-à-dire plongée dans des bouillons maintenus à 30°-35°.

En renversant le mode d'expérimentation de M. de Freudenreich, autrement dit en infectant l'intérieur de la bougie, entourée de bouillon stérilisé, on observe les faits suivants :

1° Le bacille typhique ne passe pas visiblement dans le bouillon clair et limpide, soit parce qu'il sécrète une toxine qui s'oppose à son développement, en se répandant par voie d'exosmose dans le milieu nutritif, soit parce que le bacille d'Éberth peut difficilement progresser dans la pâte du biscuit. Mais, vient-on à ajouter dans cette culture pure de bacille du typhus, contenue dans l'intérieur de la bougie, quelques gouttes d'eau de la Vanne, le bouillon qui l'entoure se remplit de bactéries au bout de quelques jours ;

2° Le spirille de Koch passe à travers le biscuit en 4 jours ;

3° La bactéridie charbonneuse se comporte comme le bacille typhique ;

4° Plusieurs organismes des eaux de la Vanne, des eaux d'égout et de vidange traversent le biscuit du 3e au 5e jour ;

5° Les Saccharomyces ne passent pas, même après un mois d'attente.

Enfin, on a affirmé que les mycéliums de quelques moi-

sissures pouvaient de même se propager dans la pâte des bougies. Je n'ai pas cherché à vérifier ce fait.

Ces résultats doivent être connus des constructeurs de filtres, afin qu'ils cherchent par tous les moyens possibles à s'opposer à la formation de dépôts putrescibles à la surface du biscuit; c'est à leur plus ou moins grande abondance qu'il faut attribuer d'abord cette extrême variabilité du pouvoir stérilisant d'un même système, et souvent le passage rapide des bactéries à travers le biscuit.

Je crois qu'en entourant et recouvrant les bougies de matériaux pulvérisés, phosphates, sable, charbon, etc... on retarderait beaucoup les inconvénients que je signale, les systèmes perdraient de leur fragilité, l'expérience fixerait à quelles époques devraient avoir lieu les nettoyages, en quoi ils devraient consister ; bref, je crois à la nécessité absolue de débarrasser au préalable l'eau impure, qu'on veut diriger à travers les bougies, de cette vase ou de ce limon qui les empêche de fonctionner régulièrement, et les entoure d'un milieu de culture nutritif d'où les bactéries partent pour infester l'eau filtrée.

Ces faits nous expliquent pourquoi une eau qui traverse un filtre de biscuit, en supposant bien entendu que la porcelaine est intacte et les joints rigoureusement étanches, peut devenir, au bout de quelques jours, microscopiquement plus impure que l'eau qu'il s'agit de stériliser.

Sauf pour le système B, qui, dans mes expériences, s'est montré capable de débarrasser l'eau de bactéries, dans une proportion considérable, il faut reconnaître que les systèmes A et D ne remplissent pas le but désiré.

On ne saurait alors trouver surprenant que la ville de Paris, appelée à dépenser peut-être un demi-million pour fournir au public, aux enfants des écoles, etc..., une eau stérile, quand des nécessités impérieuses l'obligent à substituer momentanément aux eaux de source des eaux de rivières, ait le désir de posséder un filtre aisé à surveiller, et fonctionnant d'une façon irréprochable. En un mot, si elle achète des instruments pour stériliser les eaux, elle entend évidemment qu'ils soient capables d'accomplir ce travail; personne, il me semble, ne peut qualifier cette exigence d'exorbitante.

Or les expériences bactériologiques de contrôle n'ont pas été, dans la plupart des cas, favorables aux systèmes proposés. Que reste-t-il à faire? A les perfectionner, ce qui est du ressort de l'industrie, et j'ai le ferme espoir qu'elle y parviendra d'ici à peu de temps.

La bougie Chamberland a fait faire un pas immense à la question de la stérilisation des eaux à basse température; elle a encore quelques défauts, on peut les atténuer, peut-être même les lui enlever complètement, si on se met sérieusement à l'œuvre pour résoudre ce problème.

Quant aux autres systèmes de filtres plus ou moins portatifs, soumis à mes essais, s'ils avaient fourni quelques résultats s'approchant de ceux que donne la bougie Chamberland, j'aurais profité de cette occasion pour les publier; or je n'ai rien observé de pareil; donc, il vaut mieux n'en pas parler.

REVUES ET ANALYSES[1]

Dr G. Gasperini. — **Recherches morphologiques et biologiques sur le genre Actinomyces-Harz** (*Annali dell' Istituto d'Igiene sperimentale della R. Università di Roma*, II, p. 167).

L'auteur de ce mémoire est bien connu de nos lecteurs qui ont eu l'occasion de lire son important travail sur le *Streptothrix Foersteri* (voir ces *Annales*, II, p. 449). Ses connaissances approfondies en botanique, chose, hélas! trop rare chez les bactériologistes, lui donnaient une compétence toute particulière pour apporter quelque lumière dans les questions, si obscures encore, touchant la place qu'il faut attribuer au microorganisme si curieux de l'actinomycose. Nous avons analysé ici même (tome IV, p. 356), le travail de MM. Wolff et Israël, et nous avons vu qu'ils placent l'Actinomyces parmi les bactéries; d'autres auteurs, au contraire, l'ont rangé parmi les Hyphomycètes; en outre, ils sont loin d'être d'accord sur bien des questions se rattachant à la culture et à la morphologie de ce microorganisme. Le travail de M. Gasperini est si riche en aperçus nouveaux que cela nous mènerait un peu loin de l'analyser en détail; aussi nous bornerons-nous à l'esquisser sommairement, en renvoyant le lecteur au travail original, auquel une analyse, nécessairement brève, ne saurait rendre justice. L'auteur commence par passer en revue, d'une manière très complète, les travaux publiés jusqu'ici sur l'actinomycose et décrit ensuite les résultats de ses propres recherches, illustrés par de nombreux dessins et photographies. Mais la partie la plus originale de son mémoire est certainement celle qui a trait à la classification de l'actinomycose. Comme MM. Sauvageau et Radais (*Annales de l'Institut Pasteur*, VI, p. 243), M. Gasperini arrive à la conclusion, que sa connaissance des mucédinées lui permet d'établir, avec toute l'autorité désirable, que le microorganisme de l'actinomycose doit être rangé parmi les *Streptothrix*, et, comme tel, parmi les *Hyphomycètes*. Il va plus loin encore et admet l'identité entre le *Streptothrix Fœrsteri*, les *Streptothrix* chromogènes décrits par lui et par d'autres, et le *Streptothrix* de l'actinomycose. Les différences constatées entre

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

ces diverses espèces tiendraient à l'influence du milieu et constitueraient tout au plus des variétés. Mais, tandis que MM. Sauvageau et Radais voudraient faire disparaître le genre *Streptothrix* de Cohn et intercaler ce qu'ils considèrent comme ses espèces, dans le genre *Oospora* de Wallroth, M. Gasperini trouve préférable de faire des différents *Streptothrix* reconnus identiques à celui de l'actinomycose une espèce à part, sous le nom d'*Actinomyces*, dont la position dans le genre *Streptothrix* pourra être mieux définie plus tard, quand un peu d'ordre aura été apporté dans la systématisation de ce dernier.

Ajoutons encore que la plupart des tentatives de culture de M. Gasperini sont restées sans résultat positif, ce qui, d'après lui, doit être attribué au fait que l'*Actinomyces Saprophyte*, perd, après avoir passé par l'organisme vivant et acquis des propriétés pathogènes, la propriété de se cultiver sur les milieux artificiels. En ce qui concerne les formes en massue, qui constituent une des particularités de ce microorganisme, l'auteur les attribue à l'influence du milieu. C'est pourquoi on les voit dans certains cas, tandis qu'elles sont absentes dans d'autres.

E. F.

Dr Rufino Fiocca. — **Sur la présence de bactéries pathogènes dans la salive de quelques animaux domestiques** (*Annali dell' Istituto d'Igiene sperimentale della R. Università di Roma*, vol. II, p. 233).

Les travaux de nombreux expérimentateurs ont déjà fait constater que la salive humaine contient fréquemment des bactéries pathogènes; ainsi on y a trouvé, entre autres espèces pathogènes pour l'homme, le diplocoque de la pneumonie, le bacille de la diphtérie, le staphylocoque doré, etc. M. Fiocca a recherché comment se comporte, à cet égard, la salive des animaux. Il a choisi, pour ses expériences : le cheval, un herbivore ; le chat, un carnivore, et le chien, dont le régime alimentaire est mixte. Il s'est adressé à ces animaux parce que ce sont ceux qui ont le plus de contact avec l'homme.

Dans la salive du cheval (15 animaux) l'auteur a trouvé 3 bactéries pathogènes :

1° Le bacille du pseudo-œdème malin (14 fois sur 15). Nous le décrirons en analysant le travail de M. Sanfelice sur les microbes du sol (ces *Annales*, ultérieurement);

2° Un diplocoque, probablement très voisin du diplocoque de la septicémie salivaire (Pasteur-Fraenkel), trouvé dans 2 cas;

3° Une fois, le staphylocoque pyogène blanc.

Dans la salive et dans le mucus nasal de chevaux se trouvant

dans des écuries où des épidémies de morve avaient souvent eu lieu, M. Fiocca ne put, par contre, jamais déceler la présence du bacille de cette maladie.

Dans la salive de chat (15 cas), l'auteur rencontra 3 bactéries pathogènes :

1° Un bacille salivaire septique *n. sp.* Ce bacille est l'habitant constant de la bouche du chat. Il est pathogène pour les lapins, les cobayes, les souris blanches et les jeunes rats. Les poules, les pigeons et les animaux à sang froid sont réfractaires. Les lapins et les cobayes, inoculés sous la peau, meurent en 24 heures, les rats du 4e au 5e jour.

Ce bacille auquel l'auteur donne le nom de *Bacillus salivarius septicus felis* est une petite bactérie à extrémités arrondies, ressemblant au bacille de la septicémie des lapins. Sa longueur est variable, sa largeur oscille entre 0,33 et 0,20 μ. Il se colore mal avec les solutions colorantes habituelles, assez bien avec la fuchsine phéniquée d'Ehrlich. Il ne se colore pas d'après le procédé de Gram. La température la plus favorable à sa croissance est celle de 37 degrés; il ne croît pas au-dessous de 15 degrés. Sur plaques d'agar et de gélatine, les plus petites colonies ne dépassent pas la grosseur d'une tête d'épingle. Au microscope les colonies situées dans la profondeur sont rondes, granuleuses, jaunâtres. Celles de la surface plus ou moins rondes, à bord dentelé, transparentes et finement granuleuses. Inoculé par strie sur agar incliné, il donne de petites colonies en forme de gouttelettes qui ne se rejoignent pas. Il croît difficilement sur la pomme de terre et y produit un mince enduit transparent. Dans le bouillon, il donne généralement de petits flocons qui n'amènent pas le trouble du liquide ; d'autres fois, cependant, le bouillon est troublé uniformément. Sur gélatine, la strie d'inoculation ne s'étend guère non plus ; ses bords sont granuleux et dentelés. Il est immobile et facultativement aérobie. Il ne coagule pas le lait et ne produit point de gaz dans les milieux sucrés. Il ne forme point de spores. Il est très sensible à la dessiccation; des fils de soie imprégnés d'une culture et desséchés pendant 3 jours ne donnent plus de cultures. Une température de 60 degrés le tue en 10 minutes ;

2° Le *Bacterium coli commune*. Celui-ci se trouvait dans la salive de chattes qui étaient dans la période de lactation ;

3° Le staphylocoque pyogène doré (2 fois).

Dans la salive de chien (20 animaux) l'auteur trouva :

1° Le bacille du pseudo-œdème malin (4 fois) ;

2° Le staphylocoque pyogène doré (une fois) ;

3° Un microorganisme appelé par l'auteur pseudo-bacille du rouget (4 fois).

C'est un petit bacille, large d'environ 0,20 μ. Sur les plaques de gélatine on voit au bout de 3 à 4 jours de petites taches blanches.

Quand elles sont dans la profondeur, la gélatine qui les recouvre paraît enfoncée, ce qui donne à la plaque l'aspect d'un crible; ceci le distingue déjà du bacille du rouget. Vues à un faible grossissement, elles se montrent sous forme d'un amas de filaments. Dans les cultures par piqûre, on voit, le long de celle-ci, des ramifications comme dans les cultures de rouget, mais moins délicates. A la surface, il n'y a pas de développement. Inoculé par stries sur agar, il donne une mince pellicule. Dans le bouillon il produit un trouble léger. Il ne coagule pas le lait et ne croît pas sur la pomme de terre. Les animaux les plus sensibles à une action sont les moineaux et autres petits oiseaux. Les souris blanches meurent aussi, mais il faut leur inoculer au moins 10 gouttes de culture de bouillon. Les lapins et les cobayes ne présentent qu'une légère infiltration au point d'inoculation.

E. F.

Dr P. Doehle. — **Contribution à l'étiologie de la rougeole, de la petite vérole, de la scarlatine et de la syphilis** (*Centralblatt für Backteriologie*, XII, p. 906).

L'auteur décrit des protozoaires qu'il a trouvés dans plusieurs cas des maladies surnommées. Les dessins qu'il en donne représentent, en effet, des microorganismes de cette espèce, mais il convient naturellement, avant de se prononcer, d'attendre que ces résultats soient plus amplement confirmés. Nous croyons cependant devoir les signaler, étant donné l'intérêt qui se rattache à la découverte des parasites, restés jusqu'ici insaisissables, des quatre maladies étudiées par l'auteur.

E. F.

Dr P. Frosch. — **La diffusion du bacille diphtéritique dans le corps humain** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIII, p. 49).

On admet généralement que le bacille diphtéritique reste limité au point d'infection, et ce n'est qu'exceptionnellement que quelques rares auteurs l'ont rencontré dans les organes. M. Frosch, au contraire, l'a trouvé dans le sang et dans les organes (cerveau, poumons, foie, rate, reins, glandes lymphatiques, cervicales et bronchiales) dans 10 cas sur 15. Encore pourrait-on exclure ces 5 cas négatifs, vu que la mort avait été causée par une maladie intercurrente qui, peut-être, avait entravé le développement de la diphtérie. Dans ses recherches l'auteur écrasait des morceaux relativement grands des organes examinés sur de larges surfaces d'agar. La

diffusion du bacille diphtéritique dans l'organisme paraît donc être bien plus fréquente qu'on ne l'a cru jusqu'ici. Il resterait encore à déterminer si ce fait est un indice d'une marche particulièrement grave du mal.

E. F.

Dr J. Sawtschenko. — **Les rapports des mouches avec la propagation du choléra** (*Centralblatt für Backteriologie*, XII, p. 893).

On sait par les expériences de MM. Grassi, Cattani et Tizzoni, et Simmonds que les mouches peuvent propager les germes cholériques restés adhérents à la surface de leur corps. Ainsi, M. Simmonds les a retrouvés vivants encore, après une demi-heure et plus sur des mouches intentionnellement infectées. M. Sawtschenko a recherché si les bacilles cholériques ingérés par les mouches se retrouvent vivants dans les excréments de celles-ci et pendant combien de temps ils restent vivants dans leur intestin. Les expériences furent faites avec les petites mouches ordinaires et avec des mouches plus grosses à ventre bleuâtre. Il résulte de ces expériences que 2, 6 et 24 heures après l'ingestion, les excréments donnent des colonies cholériques, surtout après 6 et 24 heures. Les mouches étaient nourries avec des cultures pures ou avec des déjections de cholériques. Pour être sûr que les bacilles cholériques trouvés sur les plaques provenaient bien de l'intestin et que les excréments n'avaient pas été infectés après coup par des bacilles restés à la surface du corps, l'auteur analysa le contenu même de l'intestin. Il put y retrouver le bacille cholérique, 1, 2, 3 et, une fois même, 4 jours après l'ingestion des cultures. Leur nombre paraissait même plus considérable après quelques jours qu'au début, ce qui rend probable que les bacilles cholériques non seulement s'y conservent vivants, mais y augmentent même de nombre. Ces cultures n'avaient, en outre, ainsi que l'expérience le prouva, rien perdu de leur virulence.

E. F.

Prof. Pfuhl. — **La désinfection des eaux d'égout par la chaux** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, p. 509).

Dans beaucoup de villes où il n'est pas possible de répandre les eaux d'égout sur des terrains, on est obligé avant de les déverser dans un cours d'eau, de les clarifier. Un des moyens les plus usités à cet effet est la chaux qui, comme M. Pfuhl l'a précédemment démontré est, en elle-même, un excellent désinfectant. Il restait à

savoir si, dans les proportions dans lesquelles on l'emploie pour la clarification, elle peut encore tuer sûrement les bacilles typhiques ou cholériques contenus dans l'eau. Dans ses expériences antérieures, M. Pfuhl avait déjà noté que de l'eau de canal de Berlin à laquelle on ajoutait 1 p. 100 de lait de chaux, soit 1,37 p. 100 de Ca (OH) 2 était désinfectée en 1 heure. Dans le présent travail, M. Pfuhl a complété cette étude, en employant des moyens d'investigation encore plus délicats, c'est-à-dire qu'au lieu d'ensemencer l'eau dans de la gélatine il l'inoculait cette fois dans du bouillon tenu à 37°. L'eau de canal était stérilisée et ensemencée avec 1/4 cbm d'une culture de 24 heures de typhus ou de choléra par 50 cmc d'eau. A ces doses, elle contenait au moins autant de microorganismes que l'eau du canal non stérilisée. Pour faciliter les dosages, il s'est servi d'hydrate de chaux en poudre (100 grammes de marbre calciné éteint avec 60 p. 100 d'eau cuite). Le lait de chaux contenant déjà une petite partie d'hydrate de chaux en solution, les résultats seront, par conséquent, encore un peu plus favorables en employant, dans la pratique, des quantités équivalentes de lait de chaux.

Des expériences de l'auteur il résulte que le bacille typhique est tué, dans ces conditions, en 1 heure par l'adjonction de 1 p. 1 000 d'hydrate de chaux, et en 1 heure et demie par l'adjonction de 1/2 p. 1 000. Le bacille du choléra est tué par l'adjonction de 1/2 p. 1 000 déjà après 1 heure. Il fallait tenir compte, toutefois, de la possibilité que l'hydrate de chaux fût plus fortement décomposé par l'eau de canal non stérilisée, et son action par cela affaiblie, et M. Pfuhl constata, en effet, que, pour obtenir dans l'eau non stérilisée le degré d'alcalescence nécessaire pour tuer les microorganismes mis en expérience, il faut 1/2 p. 1 000 d'hydrate de chaux de plus que dans l'eau de canal stérilisée. Il en résulte que, pour débarrasser de l'eau de canal fraîche des bacilles du typhus ou du chloléra en 1 heure à une demi-heure, il faut une adjonction de 1 p. 1 000 au moins d'hydrate de chaux. C'est une quantité supérieure à celle que l'on emploie d'habitude pour la clarification. Il faudra aussi éviter d'ajouter à la chaux d'autres substances précipitantes susceptibles d'entraver son action. La chaux employée devra également être analysée afin de déterminer la quantité qu'il en faut pour donner une proportion de 1 à 1 1/2 p. 1 000 d'hydrate de chaux.

E. F.

De la manière de se comporter du bacille du Choléra à la surface des fruits frais et de quelques aliments (*Publications de l'office sanitaire impérial de Berlin*, 1892).

Les aliments paraissant pouvoir être le véhicule du bacille cholérique et contribuer par là à la propagation des épidémies, il est intéressant de savoir sur lesquels il peut vivre le plus longtemps. Nous reproduisons, à ce titre, les tableaux suivants tirés du travail précité.

I. — *Fruits*

a. — Manière de se comporter du bacille cholérique sur la pulpe des fruits à la température de la chambre

ESPÈCE DE FRUITS	DEGRÉ D'ACIDITÉ en p. 100 D'ACIDE MALIQUE	LES BACILLES CHOLÉRIQUES ÉTAIENT MORTS APRÈS :
1 Cerises rouges. . . .	0,38	3-7 jours
2 » acides. . . .	0,67	3 heures
3 Fraises.	1,2	1 jour
4 Groseilles blanches .	2,48	1 heure
5 » rouges . .	2,65	1 »
6 Framboises	1,38	1 »
7 Groseilles vertes. . .	1,89	1 jour
8 Pêches d'Italie . . .	0 89	5 heures
9 Reines Claude. . . .	1,03	1 jour
10 Abricots.	1,4	20 heures
11 Poires I.	0,13	4 jours
12 » II.	0,32	2 »
13 » III	0,31	5 »
14 » IV	0,25	5 »
Pourries après 4 jours		
15 Prunes.	1,24 — 1,29	6 h. — 4 jours
16 » très grosses. .	0,86	6 heures
17 Myrtilles.	0,94	3 »
18 Airelles rouges . . .	2,33	2 »
19 Pommes.	0,83	6 »
20 Concombres I. . . .	très peu acides	5 jours
21 » II . . .		7 »
22 » III . . .		

b. — Manière de se comporter du bacille cholérique sur la pulpe des fruits à 37°

ESPÈCE DE FRUITS	DEGRÉ D'ACIDITÉ en p. 100 D'ACIDE MALIQUE	LES BACILLES CHOLÉRIQUES ÉTAIENT MORTS APRÈS :
1 Cerises douces. . . .	0,45	6 heures
2 » acides	0,67	3 »
3 Fraises	1,2	1 jour (1)
4 Groseilles blanches .	2,48	1 heure
5 » rouges . .	2,65	1 »
6 Framboises	1,38	1 »
7 Groseilles vertes. . .	1,89	1 jour
8 Pêches d'Italie . . .	0,91	5 heures
9 Reines Claude. . . .	1,01	20 »
10 Abricots.	1,3	1 jour
11 Poires I	0,17	2 jours
12 » II.	0,40	5 heures
13 » III } (2). . . .	0,27	4 jours
14 » IV } (2). . . .	0,15	4 »
15 Prunes	1,24 — 1,30	6 h. — 2 jours
16 Prunes très grosses .	0,87	6 heures
17 Myrtilles.	0,94	3 »
18 Airelles rouges . . .	2,33	2 »
19 Pommes.	1,20	6 »
20 Concombres I	très peu acides	4 jours
21 » II. . . .	très peu acides	3 »
22 » III . . .	très peu acides	3 »

c. — Manière de se comporter du bacille cholérique à la surface des fruits secs

ESPÈCE DE FRUITS	LES BACILLES CHOLÉRIQUES ÉTAIENT MORTS APRÈS :
1 Cerises	1 jour
2 Groseilles vertes.	1 »
3 Abricots.	1 »
4 Pêches.	2 jours
5 Grosses prunes	1 jour
6 Groseilles blanches	1 »

(1) Encore vivants 3 heures après l'inoculation.
(2) Les poires étaient pourries après 3 jours.

d. — Manière de se comporter du bacille cholérique à la surface de fruits exposés à la lumière directe du soleil (33° R)

ESPÈCE DE FRUITS	LES BACILLES CHOLÉRIQUES ÉTAIENT MORTS APRÈS :
1 Groseilles blanches	1 heure 1/2
2 » rouges	5 heures
3 Cerises.	2 »
4 Reines Claude.	1 heure 1/2
5 Abricots.	5 »
6 Prunes	2 »

e. — Manière de se comporter du bacille cholérique à la surface de fruits humides

ESPÈCE DE FRUITS	LES BACILLES CHOLÉRIQUES ÉTAIENT MORTS APRÈS :
1 Abricots.	1 jour
2 Cerises	5 jours
3 Groseilles blanches	7 »
4 » rouges	5 »
5 Pêches	2 »
6 Grosses prunes	1 jour
7 Concombres.	6 jours

II. — *Manière de se comporter du bacille cholérique sur diverses espèces de tabac*

ESPÈCE DE TABAC	LES BACILLES CHOLER. ÉTAIENT	
	ENCORE VIVANTS APRÈS	MORTS APRÈS
1 Cigares inoculés au bout humecté par la bouche. . .	4 heures	7 heures
2 Tabac roulé bien sec.	—	1 heure 1/2
3 Tabac à chiquer	—	1 » (1)
4 Tabac à priser	4 heures	1 jour

(1) Dans une expérience il y avait encore des bacilles vivants après 1 heure.

III. — *Manière de se comporter du bacille cholérique dans les boissons*

BOISSON	LES BACILLES CHOLÉR. ÉTAIENT	
	ENCORE VIVANTS APRÈS	MORTS APRÈS
1 Bière de Pilsen.	1 heure	3 heures
2 » Patzenhof.	1 »	3 »
3 » Munich	2 heures	3 »
4 » blanche de Berlin. .	1 heure 1/2	2 »
5 Vin blanc	—	5 minutes
6 » rouge	10 minutes	15 »
7 Cidre.	15 »	20 »
8 Café cuit et refroidi (6 %). .	1 heure	2 heures
9 » avec addition de seigle et de chicorée.	2 heures	5 »
10 Lait non stérilisé.	—	24 »
11 Lait cuit pendant 1 heure. .	9 jours	10 jours
12 Thé de Chine, 1 % refroidi.	8 »	—
» 2 % »	2 heures	4 jours
» 3 % »	—	1 jour
» 4 % »	—	1 heure
13 Cacao refroidi, 1 et 2 %. . .	7 jours	—

IV. — *Manière de se comporter du bacille cholérique sur diverses espèces de confitures*

ESPÈCE DE CONFITURE	LES BACILLES CHOLÉRIQUES ÉTAIENT MORTS APRÈS :
1 Confiture au sucre	24 heures (1)
2 » aux amandes. .	24 » (2)
3 » au chocolat. . .	24 »
4 » au biscuit . . .	24 h. — 4 jours

(1) Dans 3 expériences les bacilles étaient morts déjà après 1 heure.
(2) Dans 4 expériences les germes chloériques avaient péri déjà en 1 heure.

V. — *Manière de se comporter du bacille cholérique sur des poissons frais, salés et fumés*

ESPÈCE DE POISSON	LES BACILLES CHOLÉRIQUES ÉTAIENT MORTS APRÈS :
1 Flétan frais	2 jours
2 Aigrefin »	2 »
3 Carpes fraîches	2 »
4 Hareng salé.	24 heures
5 » fumé	24 »

Ad IV et V. — Ces espèces de poissons contenaient beaucoup d'espèces microbiennes à leur surface liquéfiant rapidement la gélatine, de telle sorte qu'il était impossible de retrouver le bacille virgule après 24 heures.

Dr G. Zagari et S. Innocente. — **Rapports entre l'alcalescence du sang et l'immunité** (*Giornale internazionale delle Scienze mediche*, XIV, p. 801).

On sait que quelques auteurs (Fodor, Behring) ont attribué l'immunité que possèdent à l'égard du charbon certaines espèces animales à l'alcalinité de leur sang. MM. Zagari et Innocente ont recherché, pour établir le bien fondé de cette hypothèse, si, lorsqu'on abolit l'immunité naturelle d'un animal à l'égard de cette maladie par les moyens connus, tels que le chloral, l'alcool, l'élévation de la température (grenouilles), le jeûne, la fatigue musculaire, on constate simultanément une diminution du degré d'alcalinité du sang.

Il résulterait de leurs recherches que la diminution de l'état réfractaire est toujours accompagnée d'une diminution de l'alcalinité du sang.

Toutes intéressantes que soient les constatations des auteurs, nous ne croyons pas qu'elles prouvent rien en faveur de la théorie, aujourd'hui passablement abandonnée, semble-t-il, d'après laquelle l'immunité résulterait de l'alcalinité du sang. Cette dernière peut, il est vrai, être influencée par le facteur, encore inconnu, qui crée l'immunité, mais sans que l'alcalinité comme telle ait rien à voir avec l'obtention de l'état réfractaire.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Novembre* 1892

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 44 du 30 Octobre au 5 Novembre 1892	1.200	400	12°,1	46mm,2	S.W	11km,2	107	121
N° 45 » 6 Novem. » 12 » »	2.670	1.840	10 ,2	11 ,0	E	6 ,2	82	102
N° 46 » 13 » » 19 » »	1.350	1.160	10 ,4	0 ,7	E	9 ,7	88	90
N° 47 » 20 » » 26 » »	1.400	1.600	6 ,3	5 ,6	S.E	8 ,2	115	104
» » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
Moyennes et totaux	1.655	1.250	9°,7	63mm,5	E	8km,8	392	417
Année moyenne	»	»	»	»	»	»	»	»

Observations. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Novembre 1892. Bactéries = 7.670 Moisissures = 340 Température = 12°,3

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Novembre 1892. Bactéries = 98 Moisissures = 238 Température = 9°,7

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Novembre* 1892

DESIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C. Novembre 1892	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C. Année moyenne	TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	2.520	1.240	»	Canalis. = 2.200 bactér.
» de la Dhuis à Ménilmontant.	12.100	2.900	»	Canalis. = 12.400 »
» » »	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	72.000	58.550	10°,2	»
» de la Seine à Ivry	100.500	56.185	10°,6	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	215.000	73.500	»	Hauteur = 2ᵐ,10
» de la Seine au pont de l'Alma.	225.000	177.620	»	»
» de la Seine épurée (Colombes)	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	61.500	76.545	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits rue Princesse à Paris	5.000	»	»	»
» Breton (Choisy)	480.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain du Moulin de Cage.	500	6.590	»	»
» de Saint-Maur	»	2.375	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	5.500.000	16.270.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est.	12.000.000	29.645.000	»	»
» » traitée à Bondy	»	55.000	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

Van Ermengem et Van Laer. — Contribution à l'étude des propriétés biochimiques du bacille d'Eberth et du *Bacterium coli* (*Trav. du lab. d'hyg. et de bactér. de l'Univ. de Gand*, tome I, fasc. 2).

Dr Gorini. — Studi sperimentali sul latte (*Laboratori scientifici della direzione di sanita*).

Dr A. Sclavo. — Di alcune differenze esistenti fra gli spirilli del colera isolati in diverse epidemie (*Revista d'Igiene e Sanita pubblica*, anno III, n° 19).

Dr J. Denys. — Etude sur les infections urinaires (*Bulletin de l'Académie royale de médecine de Belgique*, 1892).

J. Denys et Ch. Sluyts. — L'emploi du salol comme moyen de rendre les urines réfractaires au développement des agents de la cystite (*Bulletin de l'Académie royale de médecine de Belgique*, 1892).

Dr P. Pichi. — Ricerche morfologiche e fisiologiche sopra due nuove specie di Saccharomyces prossimé al *Saccharomyces membranæfaciens* di Hansen (*Annali della R. Scuola di Viticol. e die Enol. in Conegliano*, anno. III, fasc. II).

F. Castracane. — La riproduzione delle diatomee (*Memorie della Pontificia Accademia de' Nuovi Lincei*, vol. VIII, 1892).

Prof. Max Gruber et Dr E. Wiener. — Cholera-Studien. — Études sur le choléra (*Archiv für Hygiene*, XV, p. 242).

Prof. Podwyssozki. — Studien über Coccidien. Études sur les coccidies (*Centralblatt für allgem. Pathologie u. pathologische Anatomie*, III, p. 577).

Dr O. Lanz et Dr A. Flach. — Untersuchungen über die Sterilität aseptisch u. antiseptisch behandelter Wunden unter aseptischen u. antiseptischen Verbeänden. Recherches sur la stérilité des plaies traitées aseptiquement et antiseptiquement par des pansements aseptiques et antiseptiques (*Langenbeck's Archiv*, XLIV, n° 4).

Dr N.-N. Wnukow. — Zur Bakteriologie der Lepra. Contribution

à la bactériologie de la lèpre (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 783).

Dr B. WASMUTH. — Ueber Durchgängigkeit der Haut für Mikroben. De la perméabilité de la peau pour les microbes (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, XII, p. 824 et 846).

TH. ZUMPFT. — Sur les processus de putréfaction dans le gros intestin de l'homme et sur les microorganismes qui les provoquent (*Archives des sciences biologiques* publiées par l'Institut Impérial de médecine expérimentale à Saint-Pétersbourg, I, p. 497).

L. DE BEKOWSKI. — Sur les microorganismes dans les organes des morts cholériques (*Archives des sciences biologiques*, publiées par l'Institut Impérial de médecine expérimentale à Saint-Pétersbourg, I, p. 517).

M. JAKOWSKI. — Contributions à l'étude des processus chimiques dans les intestins de l'homme (*Archives des sciences biologiques* publiées par l'Institut Impérial de médecine expérimentale à Saint-Pétersbourg, I, p. 539).

PFUHL. — Ein Fall von Allgemeininfection mit Streptokoken in Folge von Hauterysipel. Un cas d'infection générale par le streptocoque à la suite d'un érysipèle de la peau (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XII, p. 517).

H. JAEGER. — Die Aetiologie des infectiösen fieberhaften Icterus. L'étiologie de l'ictère infectieux fébrile (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XII, p. 625).

UHL. — Untersuchungen der Marktmilch in Giessen. Examen du lait vendu sur le marché à Giessen (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, p. 475).

KARTULIS. — Ueber pathogene Protozoën bei dem Menschen. Sur des protozoaires pathogènes chez l'homme (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankeiten*, XIII, p. 1).

SPIRIG. — Der Desinfectionswerth der Sozojodolpräparate. De la valeur désinfectante des préparations au sozojodol (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XIII, p. 15).

A. ALBU et Th. WEYL. — Das tuberculöse Sputum nach andauerndem creosot Gebrauch enthält lebende Tuberkelbacillen. Le sputum tuberculeux contient des bacilles vivants de la tuberculose après un emploi prolongé de la créosote (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIII, p. 38).

I. Uffelmann. — Beiträge zur Biologie des Cholerabacillus. Contribution à la biologie du bacille cholérique (*Berliner Klin. Wochenschrift*, 1892, n° 48).

C. Fraenkel. — Nachweiss der Cholerabakterien im Flusswasser. Constatation du bacille cholérique dans l'eau de rivière (*Deutsche med. Wochenschrift*, 1892, n° 41).

Hesse. — Ueber Milchsterilisirung im Grossbetriebe. De la stérilisation du lait dans l'industrie (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionkrankheiten*, XIII, p. 42).

K. Köhler. — Ueber das Verhalten der Typhusbacillen gegenüber verschiedenen chemischen Agentien, insbesondere Säuren, Alcalien und Anilinfarbstoffen. De la résistance du bacille typhique à différents agents chimiques, en particulier aux acides, aux alcalis et aux couleurs d'aniline (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XIII, p. 54).

Max Bleich. — Ueber bittere Milch und die Sterilisirung der Milch durch Erhitzen unter Luftabschluss. Du lait amer et de la stérilisation du lait par la chaleur à l'abri de l'air (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XIII, p 81).

W. Conn. — The fermentations of milk. Les fermentations du lait (*U. S. department of Agriculture Experiment station*, Bulletin n° 9, 1892).

Dr F. Sanfelice. — Sulla tossicità degli anaerobi del terreno. Sur la toxicité des anaérobies de la terre (*Annali dell'Istituto d'igiene sperimentale della R. Università di Roma*, II, p. 305).

L'Éditeur-Gérant : Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*) (1)

Par le Dr P. MIQUEL

§ III. — Description des espèces

Urococcus Van Tieghemi *sive* Urococcus α

J'ignore si l'espèce dont la description suit est identique à celle qui attira pour la première fois l'attention de M. Pasteur, et qui, quelques années plus tard, fit de la part de M. Van Tieghem l'objet d'un travail très intéressant sur la fermentation ammoniacale (2).

C'est vers 1863 que M. Van Tieghem entreprit d'élucider le mécanisme de la décomposition spontanée de l'urée ; c'est lui qui démontra que cette décomposition avait pour point de départ la vie d'un végétal inférieur; que, sans ce végétal, l'urée ne fermentait pas, et qu'enfin on pouvait à volonté produire cette fermentation par voie d'ensemencement et de culture.

« Le dédoublement de l'urée, disait-il (thèse citée, p. 64), que nous produisons dans nos laboratoires par l'influence des acides, des alcalis ou d'une température élevée sous forte pression, est réalisé dans la nature par une autre force; il est toujours en corrélation nécessaire avec la vie et la nutrition d'un être organisé spécial. »

N'oublions pas qu'à cette époque les études bactériologiques étaient entourées de difficultés très réelles, que la

(1) Voir les tomes précédents de ces *Annales*.
(2) Van Tieghem, Thèse, n° 256, soutenue le 8 juin 1864. Paris.

technique actuelle a, à peu près, vaincues ; les recherches de M. Van Tieghem sur la décomposition de l'urée ont donc dû être très laborieuses, et nous devons ajouter qu'elles ont contribué, pour une large part, à créer la bactériologie si vulgarisée aujourd'hui.

C'est en souvenir de ce beau travail que j'attribue au ferment de l'urée le plus répandu dans la nature, le plus aisé à se procurer, le nom d'un des microbotanistes les plus éminents de l'époque actuelle.

Je n'affirmerai pas que le *Micrococcus ureæ* α est identique à celui qu'a eu jadis entre les mains M. Van Tieghem ; à l'époque éloignée où je me reporte, on n'employait pas les moyens dont on se sert maintenant pour caractériser les espèces. D'ailleurs, la spécificité d'action des microorganismes était envisagée dans des limites qui me paraissent beaucoup trop étroites : la forme de coccus et le fait saillant de l'hydratation de l'urée semblaient suffisamment caractériser une espèce zymogène, pour qu'il parût utile de rechercher de nouveaux caractères distinctifs. Actuellement, la tâche du microbiologiste doit être plus étendue : il importe, à mon sens de déterminer : la rapidité de la fermentation provoquée par le microorganisme, l'énergie du ferment organisé, l'abondance de la diastase qu'il sécrète, sa morphologie, l'aspect de ses cultures liquides et solides, sa résistance aux agents chimiques et physiques, etc.

Il n'est pas, du reste, nécessaire de remonter à l'année 1863 pour constater qu'il existe, souvent, des lacunes regrettables dans la description des bactéries, même spécifiques ; c'est pour ce motif qu'il est difficile parfois aux micrographes d'acquérir la certitude que l'espèce qu'ils ont sous les yeux est bien identique à celle qui a été étudiée sous tel ou tel nom par tel ou tel auteur.

Pour ne pas nous éloigner du sujet qui nous occupe, je rapporterai les caractères que donne du *Micrococcus ureæ* le Dr Flügge, dans un ouvrage relativement récent (1).

« *Micrococcus ureæ.* — Microcoques de 0,8 μ, à 1,0 μ de diamètre ; souvent réunis en diplocoques ou par

(1) *Les microorganismes*, traduction française du Dr HENRIJEAN, 1887, page 129.

groupes de 4 ; souvent aussi en chaînettes plus longues. D'après Leube, on observe après 24 heures sur les cultures en plaques, des taches blanches nacrées, du volume d'un grain de millet, occupant la surface de la gélatine; leur surface est lisse, et leur bord net tranché. Après une dizaine de jours, les colonies ont atteint le volume d'une pièce de 0f,20c en argent ; elles dépassent un peu la surface et ressemblent à des gouttes de stéarine tombée sur la gélatine. La colonie circulaire ne tarde pas à se diviser en plusieurs secteurs. Sous un faible grossissement, le bord de la colonie paraît formé par de fines granulations ; vers le centre, elle est complètement opaque. La gélatine n'est pas liquéfiée. Dans la culture par piqûre, les micrococcus forment de minces filaments visqueux ; dans les vieilles cultures, il se développe une odeur fade de colle. Si l'on met une petite quantité de ces cultures dans une solution d'urée ou d'urine, on voit se produire une énergique transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque. Pasteur et Van Tieghem avaient déjà admis que les micrococques étaient les agents de cette hydratation; ils donnent pour cette raison à ce germe le nom de *Micrococcus ureæ*. »

Je ne saurais établir avec les documents que j'ai entre les mains, si MM. Pasteur et Van Tieghem ont donné ultérieurement le nom de *Micrococcus ureæ* à l'espèce qu'ils ont habituellement désignée par les termes de torule ammoniacale ou de petite torulacée ; ce que je puis affirmer, c'est qu'ils ne se sont pas contentés d'*admettre* que cette plantule microscopique était un agent capable d'hydrater l'urée ; ils ont commencé, tout d'abord, par le démontrer. Vingt ans avant que Leube s'occupât de la fermentation ammoniacale, la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque par les micrococques était un fait acquis à la science, de même que la découverte des bacilles ferments de la carbamide déjà étudiés depuis 7 à 8 ans avant que ce dernier auteur les eût retrouvés. Ce sont là des points que notre savant confrère le Dr Flügge ne saurait dorénavant ignorer.

Nous venons de voir, par la citation qui précède, que le *Micrococcus ureæ* serait formé par des cellules sphériques

d'un diamètre variant de 0,8 à 1 μ, propriété commune à une infinité de microcoques ; que ces sphérules, tantôt associées en courtes chaînes, tantôt quatre à quatre et en diplocoques offriraient l'aspect de la majorité des coccus dans les milieux de cultures ; qu'ils donneraient des colonies blanchâtres ; que les piqûres fourniraient des clous à corps chétif, et dont la tête s'étalerait en gouttes stéarineuses, etc. Tous ces aspects sont présentés par une immense variété de microcoques, et il n'existe rien de cette description, qui puisse aider au diagnostic du *Micrococcus ureæ*, sinon la faculté qu'il possède de faire fermenter l'urée. Or, comme il existe dans la nature une vingtaine de micrococcus qui jouissent de cette même propriété, le bactériologiste ne saurait retirer un grand bénéfice de la description que nous venons de reproduire.

On abuse, réellement, depuis quelques années des caractères macroscopiques banaux que présentent les micro-organismes sur la gélatine ; on ne tarit pas en indications sur la forme des colonies, sur leur couleur, leur aspect général, etc., qui, comme on doit le reconnaître, changent tous les jours dans la même culture, et ne sont pas souvent identiques dans des cultures identiquement préparées. Je crois qu'il se fera, d'ici à peu de temps, une réaction contre le flot toujours ascendant de ces descriptions beaucoup trop ressemblantes, et qu'on ne tardera pas à faire entrer en ligne de compte d'autres caractères plus stables et plus importants que ceux qu'on a l'habitude de publier. Actuellement la bactériologie va en se compliquant de plus en plus ; il n'est pas difficile de prévoir qu'elle ira, au contraire, en se simplifiant quand un microbotaniste autorisé s'attachera à grouper les bactéries suivant leurs fonctions pathologiques et physico-chimiques, et reléguera à un arrière-plan ces caractères insignifiants ou inconstants auxquels on semble attacher, aujourd'hui, tant d'importance.

Habitat de l'Urococcus Van Tieghemi. — Ce micro-organisme est le ferment de l'urée le plus répandu autour de nous ; on le trouve très fréquemment dans l'atmosphère, dans la plupart des eaux, dans les eaux de sources les plus pures comme dans les eaux d'égouts ; on le rencontre

également dans les terres arables et la boue des rues. C'est cette espèce qui domine habituellement dans les incrustations qui se forment sur les parois des urinoirs publics et sur le sol de beaucoup de cabinets d'aisance mal tenus ; on l'y trouve en nombre d'individus dépassant la totalité des diverses bactéries urophages. Cependant, dans quelques cas, j'ai constaté que les Urobacilles se rencontraient dans de semblables conditions en nombre plus élevé que les Urocoques ; cela a lieu dans les cabinets des vieilles maisons parisiennes où les règles de l'hygiène sont ignorées autant des habitants que des propriétaires ; ces maisons se rencontrent, malheureusement encore assez fréquemment, à Paris, dans les quartiers industriels et populeux du centre, et dans les cités des arrondissements périphériques.

Malgré son extrême abondance dans la nature, l'obtention à l'état de pureté absolue de l'*Urococcus Van Tieghemi* reste une opération assez délicate.

Le procédé qui paraît devoir conduire le plus rapidement au but désiré consiste à fabriquer des plaques avec de la gélatine chargée de 20 p. 100 d'urée et quelques centimètres cubes d'eau de rivière diluée à 1 : 1000. Si on recherche ce ferment en ensemençant les poussières brutes de l'atmosphère, la plupart des colonies qui se forment, je dois dire presque toutes, renferment rarement une espèce unique, et l'on ne doit pas s'attendre à ce que l'ensemencement de ces colonies dans les urines naturelles ou artificielles, dont la fonction zymogène a été dévoilée par l'apparition d'auréoles cristallines, puisse assurer la prépondérance aux micrococques de la fermentation ammoniacale ; on peut se trouver ici dans le cas sur lequel j'ai longuement insisté dans le paragraphe relatif à l'*Urobacillus Maddoxii*, c'est-à-dire qu'on est exposé à poursuivre longtemps sans succès la purification de l'espèce qu'on désire isoler.

Avec les eaux, où les microbes sont généralement mieux séparés les uns des autres, et où les particules bactérifères tenues en suspension sont formées par un nombre de bactéries infiniment plus faible que celles qu'on peut rencontrer soudées sur un grain invisible de poussière, le succès est

moins incertain ; en effet, sur une dizaine de colonies se présentant dans la gélatine chargée d'urée avec l'auréole de cristaux caractéristiques, il est bien rare que trois ou quatre d'entre elles ne soient pas formées par l'*Urococcus Van Tieghemi*.

On peut encore utiliser pour la recherche de cette espèce les liquides ammoniacaux qui séjournent dans les urinoirs défectueux. Avec le liquide recueilli et filtré au papier, puis dilué à 1 : 10 000, on fabrique des plaques où l'urococcus en question se développe parfois d'emblée à l'état de pureté. Il est loin d'en être de même avec les urines devenues ammoniacales des malades soumis au cathétérisme. Lorsque les urines de ces patients deviennent ammoniacales, elles ont déjà ordinairement présenté depuis plusieurs jours, quelquefois depuis plusieurs mois, une profusion de bactéries d'espèces variées se montrant toutes sans action sur l'urée. N'a pas la teigne qui veut, a dit, je crois, notre célèbre dermatologue Bazin ; n'a pas les urines ammoniacales qui veut, peut-on dire également, car j'ai vu un grand nombre d'urinaires qui faisaient tout pour semer des espèces urophages dans leur vessie, et qui n'ont jamais pu y parvenir. Je veux en venir à ceci : qu'en croyant trouver à l'état de pureté des ferments ammoniacaux chez les malades atteints de paralysie ou de catarrhes vésicaux, dont les urines sont devenues très alcalines, on se ferait une étrange illusion.

Fermentations provoquées par l'Urococcus Van Tieghemi. — Introduit dans l'urine normale stérilisée à froid, toujours pourvue d'un degré d'acidité très manifeste, l'Urococcus ne trouble pas sensiblement sa limpidité avant 24 heures. De la 24e à la 48e heure, on aperçoit au fond du vase le coccus qui se développe en taches comparables à celles qu'offrent les levures de vin semées dans les milieux sucrés ou nutritifs ; bientôt après il se produit dans la partie inférieure du flacon une zone trouble qui gagne rapidement en hauteur et qui est due à la formation progressive, de bas en haut, des phosphates et urates des urines en voie de précipitation. Habituellement, 72 heures après l'ensemencement, les urines ont perdu de 8 à 10 grammes d'urée, mais ce n'est pas là

une règle absolue, car, suivant le plus ou moins d'acidité de ces liquides, la végétation des coccus est plus ou moins lente ; quelques urines sont encore neutres ou légèrement acides, après 2 ou 3 jours d'attente. Quand la fermentation est bien établie, elle marche généralement à raison d'une hydratation de 5 à 6 grammes d'urée par jour et par litre de liquide.

Urines normales stérilisées à froid

	Urée disparue par litre :			
	I	II	III	IV
Après 1 jour	nulle	nulle	nulle	nulle
» 2 jours	3 gr 3	1 gr 6	nulle	nulle
» 3 »	8 7	7 3	nulle	1 gr 2
» 4 »	12 6	12 8	2 gr 3	5 6
» 5 »	17 9	19 6	7 4	10 1
» 6 »	21 7	19 6	16 8	14 9
» 7 »	23 2	»	21 4	17 7
» 8 »	23 2	»	24 4	17 7

J'ai fait un plus grand nombre d'expériences avec l'urine humaine stérilisée à 110° et d'une richesse en urée très variable ; j'ai toujours remarqué que la fermentation dans ce liquide animal n'était bien sensible qu'après une durée d'incubation de 24 heures, puis qu'elle se poursuivait avec régularité jusqu'à la disparition complète de la carbamide.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Urine humaine stérilisée à 110°

	Urée disparue par litre :					
	I	II	III	IV	V	VI
Après 1 jour	»	1 gr 2	»	»	2 gr 1	2 gr 1
» 2 jours	5 gr 4	6 1	4 gr 4	1 gr 6	8 2	8 6
» 3 »	10 7	12 5	11 3	7 4	14 5	14 6
» 4 »	15 9	17 3	16 8	13 8	14 5	14 6
» 5 »	16 0	»	20 3	18 9	»	»
» 6 »	16 0	17 3	22 3	18 9	»	»

J'attire plus particulièrement l'attention sur les fermen-

tations V et VI, provoquées dans deux échantillons d'une même urine, peu chargée d'urée, et dont la marche concorde d'une façon remarquable ; ce fait est d'ailleurs très fréquemment observé quand on prend le soin d'opérer avec les mêmes liquides dans des conditions de tous points identiques.

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Urine humaine stérilisée à 110°

	Urée disparue par litre :					
	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Après 1 jour	4 gr 1	3 gr 5	1 gr 4	»	»	3 gr 1
» 2 jours	9 8	8 7	8 6	5 gr 3	9 gr 1	7 7
» 3 »	16 1	15 5	12 8	11 6	15 3	13 4
» 4 »	19 9	20 0	16 3	18 5	20 8	18 5
» 5 »	21 0	21 7	16 3	18 5	22 3	18 5
» 6 »	21 7	21 7	»	»	22 3	»

Ordinairement le poids d'urée pure hydratée dans les urines naturelles varie de 5 à 6 grammes par 24 heures ; dans certains cas, ce poids peut atteindre 7 grammes ; dans d'autres, il est inférieur à 5. Il ne faut voir là que l'effet d'une convenance de milieu ; en effet, avec les urines artificielles chargées de 20 grammes d'urée par litre, ces écarts sont beaucoup moins sensibles, et, si les fermentations n'ont pas une marche plus rapide, leur allure est du moins beaucoup plus régulière.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Urine artificielle contenant 20 grammes d'urée par litre

	Urée disparue par litre :					
	I	II	III	IV	V	VI
Après 1 jour	2 gr 6	3 gr 9	2 gr 4	1 gr 1	4 gr 8	3 gr 1
» 2 jours	7 3	8 6	»	6 7	9 6	8 5
» 3 »	12 5	13 3	13 5	11 0	15 1	14 0
» 4 »	17 1	18 1	»	16 1	19 7	18 9
» 5 »	20 0	19 9	19 9	20 0	19 9	19 8

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Urine artificielle contenant 20 grammes d'urée par litre

	Urée disparue par litre :					
	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Après 1 jour	2 gr 4	3 gr 8	»	»	2 gr 8	1 gr 5
» 2 jours	7 9	9 3	7 gr 1	6 gr 7	3 2	6 3
» 3 »	13 0	14 5	13 8	12 3	14 0	11 8
» 4 »	18 8	19 0	18 4	18 7	20 0	17 0
» 5 »	20 0	19 9	19 9	19 9	»	20 0

C'est environ sous le poids de 5 gr. 2 à 5 gr. 4 que disparaît, en moyenne, l'urée par jour et par litre ; ce qui porte à 0 gr. 22 le poids de carbamide hydratée à l'heure par l'*Urococcus Van Tieghemi.*

J'ai d'ailleurs effectué pour contrôler ce résultat quelques expériences sur la disparition progressive de l'urée.

Troisième jour	Urée disparue	Différences
11 heures	12 gr 9	»
midi	13 1	0 gr 2
1 heure	13 4	0 3
2 heures	13 6	0 2
3 »	13 9	0 3
4 »	14 1	0 2
5 »	14 3	0 2

D'où une différence moyenne de 0 gr. 23 d'urée par intervalle horaire.

L'Urococcus qui nous occupe est donc un ferment actif, mais il faut reconnaître que la rapidité de son action ne saurait être comparée à celle de quelques bacilles urophages ; quoi qu'il en soit, notons l'hydratation de 0 gr. 23 d'urée par litre et par heure, et nous pourrons apprécier qu'il occupe une bonne place parmi les micrococcus ferments de la carbamide.

L'énergie fermentaire de cette espèce est de même digne d'attirer l'attention, car on rencontre rarement des micrococques qui puissent pousser aussi loin l'hydratation de l'urée.

Quand on la sème dans des bouillons tenant en solution 30 grammes d'urée, la fermentation est ordinairement

complète à la fin du 5e jour, au plus tard dans le cours du 6e. Si le bouillon contient 40 grammes de carbamide, 80 fois sur 100 la fermentation se poursuit jusqu'au bout ; il n'en est plus de même si cette dose est notablement dépassée.

Ainsi que le montre le tableau suivant, la fermentation reste en route, et quelquefois les liquides mis à fermenter n'accusent pas une quantité d'ammoniaque correspondant à la destruction de 40 grammes d'urée (Exp. IV).

Urine artificielle chargée de 50 *grammes d'urée par litre*

	Urée disparue par litre :			
	I	II	III	IV
Après 2 jours	»	»	»	»
» 3 »	16gr 4	21gr 1	22gr 5	»
» 4 »	23 2	28 2	30 3	»
» 5 »	30 3	32 1	»	19gr 4
» 6 »	»	36 7	»	»
» 7 »	40 3	39 2	28 2	»
» 8 »	42 9	42 8	»	»
» 10 »	42 6	42 9	43 2	36 4

Si on force encore la dose de l'urée, et si on la porte à 100 grammes pour 1,000 centimètres cubes de bouillon, la fermentation devient improbable : quand elle débute, elle s'arrête généralement bientôt ou marche avec beaucoup de lenteur ; sur 10 essais pratiqués avec des bouillons carbamisés à 10 p. 100, dans 4 cas les résultats obtenus ont été négatifs dans 5 cas la quantité d'urée décomposée a varié : de 3 gr. 5 à 9 gr. 6 (3 gr. 5, 6 gr. 4, 8 gr., 9 gr. 6) ; dans un seul cas la fermentation s'était très bien établie, et la quantité d'urée disparue s'éleva à 57 gr. 8, chiffre le plus élevé qu'il m'ait été donné d'observer jusqu'ici avec l'*Urococcus Van Tieghemi.*

La température de 30° est celle qui favorise le mieux la rapidité de l'hydratation qui cesse d'être évidente quand les bouillons sont exposés au-delà de 38-39°.

Urine artificielle chargée de 20 grammes d'urée

	Urée disparue par litre :					
	3°,8	15°	30°	35°	39°	40°
Après 2 jours	»	4 gr 3	8 gr 3	4 gr 0	néant	néant
» 4 »	2 gr 1	7 2	19 6	16 2	néant	néant
» 6 »	»	12 5	19 9	17 7	néant	néant
» 9 »	5 5	18 6	»	19 8	néant	néant
» 15 »	13 6	20 1	»	»	néant	néant
Un mois	18 4	»	»	»	néant	néant

Par des expériences nombreuses et fréquemment répétées, j'ai acquis la conviction que ce même Urocoque ne peut pas déterminer l'hydratation de l'amide carbonique à la température de 40°, alors que la plupart des bacilles urophages agissent très énergiquement à ce degré de chaleur.

Morphologie de l'Urococcus Van Tieghemi. — Cette espèce est formée par des cellules sphériques d'un diamètre variant de 1 à 1,5 μ. Ces cellules sont très fréquemment associées deux à deux ; c'est-à-dire que, la scissiparisation achevée, elles restent quelque temps accolées ensemble. Mais, elles ne proviennent pas par segmentation, comme quelques microcoques, de filaments bacillaires, qu'on voit se réduire en articles courts qui s'étranglent et donnent ultérieurement des diplocoques. L'Urococcus qui est décrit ici n'offre pas de chaînes moniliformes ; c'est par un effet de pur hasard que ses cellules sont vues parfois sous la forme quadratique, association qui est surtout propre aux Sarcines.

L'*Urococcus Van Tieghemi* est parfaitement immobile, il se multiplie par division et ne laisse jamais voir d'endospores. Dans les vieilles cultures, on le rencontre en amas de grains généralement plus petits que dans les cultures fraîches ; quelquefois cependant les dépôts anciens laissent apercevoir des globules hypertrophiés, ellipsoïdes et même irréguliers. Aucun caractère tiré de la forme de cette espèce ne semble donc devoir être pris en considération dans une diagnose sérieuse ; effectivement l'*Urococcus Van Tieghemi* possède l'aspect des micrococcus les plus vulgaires, et à l'examen microscopique il est facile de le confondre avec eux.

Semé dans le bouillon de peptone, l'Urocoque de Van Tieghem s'y développe en donnant, le second jour, un dépôt léger accompagné d'un trouble général de la liqueur ; s'il a été maltraité par le carbonate d'ammoniaque, le rajeunissement peut se faire attendre 3, 4 et même 5 jours ; en tout cas, le trouble léger qui a envahi le liquide se dissipe, puis le dépôt blanc qui s'est produit au fond du vase va ultérieurement en augmentant.

Si le micrococcus-ferment est semé par piqûre sur la gélatine ordinaire, il donne au bout de quelques jours un petit clou à tête saillante, convexe, assez volumineuse, mais dont le corps reste chétif et filiforme. La gélatine n'est jamais liquéfiée, même après une attente de 3 années ; à cette époque, si éloignée de l'ensemencement, la trace apparente souterraine est formée par un amas de granulations se touchant ou très voisines les unes des autres ; la couleur du coccus est jaune, ainsi que celle de la gélatine qui l'entoure ; habituellement l'espèce est alors morte.

Piquée sur les milieux demi-solides chargés d'urée, la culture belle, quoiqu'un peu maigre, s'entoure rapidement de cristaux, et plus tard, si le milieu choisi est la gélatine, la masse se ramollit et se transforme en un liquide sirupeux.

Ainsi donc, l'*Urococcus Van Tieghemi* se conduit comme les ferments actifs de l'urée, mais il possède, de plus, la faculté précieuse que n'offrent pas plusieurs Urobacilles, celle de se cultiver aisément dans la plupart des liquides usités en bactériologie : sur la gélatine, le lichen, l'agar non additionnés d'urée ou préalablement alcalinisés.

De la fermentation provoquée par l'Urobacillus Van Tieghemi. — Cette hydratation de la carbamide est de tous points comparable à celle que déterminent les bacilles : ce coccus se nourrit de peptone et sécrète de l'urase. Cette sécrétion est loin d'être aussi rapide et aussi abondante que celle qui s'obtient dans le bouillon ensemencé avec des Urobacilles très actifs ; cependant elle est assez notable pour produire en quelques heures la destruction de 40 à 50 grammes d'urée par litre. J'ai fréquemment utilisé la culture de cette espèce pour me procurer des solutions moyennement chargées de ferment soluble.

Dans les bouillons de peptone pur, l'*Urococcus Van*

Tieghemi prend un développement assez considérable, surtout si on fait parcourir la culture par un courant d'air filtré ; la quantité de cellules ainsi obtenue peut s'élever à 0 gr. 1 par litre, soit à 1 : 400 du poids de la peptone employée. Au contraire, quand le liquide renferme, avec 20 grammes de peptone 20 grammes d'urée pure, le poids des cellules ne dépasse pas 0 gr. 02. Cela tient, je l'ai souvent répété, à l'action nocive qu'exerce le carbonate d'ammoniaque produit sur la végétation des bactéries. Quoi qu'il en soit, les chiffres rapportés dans la note placée ci-dessous (1) démontrent qu'il faut un travail végétatif plus grand pour obtenir 20 grammes d'urée avec l'*Urococcus Van Tieghemi* qu'avec les *Urobacillus Pasteurii* et *Duclauxii*.

Action de la chaleur sur l'Urococcus Van Tieghemi. — Cette espèce ne fournissant pas de spores, on devait s'attendre à la voir résister faiblement à l'action des températures élevées ; c'est effectivement ce que démontrent les expériences résumées dans le tableau qui suit :

Résistance des germes de l'Urococcus Van Tieghemi à la chaleur humide

Température maintenue 2 heures à	Nombre d'ampoules mises en expériences	Nombre d'ampoules ayant déterminé la fermentation
40°	4	4
42°,5	4	4
45°,2	4	3
47°,5	4	0
49°,5	4	0
61°,0	4	0
65°,3	4	0

(1) Première expérience. — Bouillon de peptone chargé de 20 grammes d'urée.

Filtre + 0 gr. 797 = tare : 1 gramme.

Après la filtration du bouillon totalement fermenté.

Filtre + 0 gr. 779 = tare : 1 gramme.

Différence = 0 gr. 018 ; rapport = $\frac{20,000}{18}$ = 1,111.

Deuxième expérience. — Bouillon de peptone chargé de 20 grammes d'urée.

Filtre + 0 gr. 763 = tare : 1 gramme.

Après filtration du bouillon totalement fermenté.

Filtre + 0 gr. 742 = tare : 1 gramme.

Différence = 0 gr. 021 ; rapport $\frac{20,000}{21}$ = 952.

Moyenne des deux rapports = 1,031.

L'eau distillée des ampoules chargée de l'espèce considérée s'est donc montrée inféconde quand elle a été soumise pendant quelque temps à une température supérieure à 45° centigrades ; on peut, ainsi, éliminer facilement les Urococcus des nombreux ferments de l'urée en chauffant le mélange des espèces pendant 2 heures à 50°. Nous savons que ces sortes de triages par la chaleur sont des plus précieux pour se procurer des espèces à l'état de pureté ; je me suis, du reste, étendu plus haut un temps suffisamment long sur cet artifice de laboratoire pour qu'il soit utile d'y insister de nouveau.

Bien que le carbonate d'ammoniaque soit caustique pour les organismes figurés qui en provoquent la formation, quand les urines fermentées n'en renferment pas une quantité correspondant à la décomposition de 20 grammes d'urée par litre, l'*Urococcus Van Tieghemi* peut encore être trouvé vivant dans le sein des dépôts formés dans les urines artificielles fermentées après une attente de 2, 3 et même 4 mois. Au bout de 6 mois, l'Urococcus ne peut se rajeunir quelle que soit la durée de l'incubation. Si les urines contiennent 40 ou 50 grammes d'urée, l'espèce meurt en peu de temps entre le dixième et le quinzième jour. Deux semaines après la fermentation maximum que l'urocoque est capable de déterminer, on peut vider les flacons où s'est produite l'hydratation en conservant les dépôts, et remplacer le liquide ammoniacal par des urines fraîches stériles, sans parvenir à déterminer de nouvelles hydratations.

Sur la gélatine et dans le bouillon de peptone, l'espèce peut se conserver pendant plus d'une année: il est à noter qu'au bout de 2 ans, les Urocoques développés sur la gelée sont dépourvus de vitalité, tandis que ceux qui se sont déposés sur la paroi inférieure des flacons qui contiennent le bouillon peuvent aisément se rajeunir. Au bout de 3 ans, l'Urocoque des dépôts formés dans le bouillon est totalement mort.

De l'action des antiseptiques sur l'Urococcus Van Tieghemi. — La substance qui se montre la plus toxique vis-à-vis de ce ferment de l'urée est le biiodure de mercure. Ce corps s'oppose à la végétation de ce microorganisme quand les urines artificielles en renferment la 1:50.000 partie de leur poids.

Action du biiodure de mercure sur l'Urococcus Van Tieghemi

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
0gr 100	1 : 10,000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20,000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20,000	»	»	»	nulle
0 033	1 : 30,000	»	»	»	nulle
0 033	1 : 30,000	»	»	»	nulle
0 025	1 : 40,000	»	»	»	nulle
0 025	1 : 40,000	»	»	»	nulle
0 020	1 : 50,000	»	»	»	nulle
0 020	1 : 50,000	»	»	»	2gr 1
0 020	1 : 50,000	»	»	»	nulle
0 016	1 : 60,000	»	»	5gr 4	9gr 3
0 013	1 : 75,000	»	4gr 3	»	12 6
0 013	1 : 75,000	»	»	»	10 7
0 010	1 : 100,000	2gr 7	17 6	»	17 4
0 010	1 : 100,000	»	8 9	»	11 4
0 010	1 : 100,000	3 5	»	7 3	15 8

Sous la dose très faible de 1:100.000 de biiodure de mercure, les fermentations par l'Urocoque sont très manifestement entravées; il est vrai qu'elles débutent, mais rarement elles peuvent se terminer.

Le sublimé agit d'une façon analogue, cependant avec un peu moins d'énergie, car j'ai pu observer des débuts d'hydratation dans des urines où ce sel de mercure avait été ajouté dans la proportion de 1:40.000.

Action du bichlorure de mercure sur l'Urococcus Van Tieghemi

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
0gr 100	1 : 10,000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20,000	»	»	»	nulle
0 050	1 : 20,000	»	»	»	nulle
0 033	1 : 30,000	»	»	»	nulle
0 033	1 : 30,000	»	»	»	1gr7(?)
0 025	1 : 40,000	»	»	»	nulle
0 025	1 : 40,000	»	»	»	nulle
0 020	1 : 50,000	»	»	»	6gr 6
0 020	1 : 50,000	»	»	3gr 2	3 6
0 020	1 : 50,000	»	»	11 7	17 3
0 016	1 : 60,000	»	»	16 1	19 8
0 013	1 : 75,000	»	8gr 9	»	18 0
0 013	1 : 75,000	»	»	12 6	16 8
0 010	1 : 100,000	4gr 2	15 4	»	16 6
0 010	1 : 100,000	7 1	»	»	19 7

Comme toujours, le pouvoir antiseptique des sels de cuivre s'est montré bien inférieur aux mercuriaux; sous le poids de 1:2000, ces premiers sels ne s'opposent pas, du moins, au départ des hydratations.

Action du sulfate de cuivre sur l'Urococcus Van Tieghemi

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de:			
		3 jours	6 jours	9 jours	un mois
1 gr 00	1 : 1,000	»	»	»	nulle
1 00	1 : 1,000	»	»	»	nulle
1 00	1 : 1,000	»	»	»	nulle
0 666	1 : 1,500	»	»	»	2 gr 7
0 666	1 : 1,500	»	»	»	nulle
0 666	1 : 1,500	»	»	»	nulle
0 666	1 : 1,500	»	»	»	nulle
0 666	1 : 1,500	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2,000	»	»	2 gr 3	5 gr 8
0 500	1 : 2,000	»	»	»	nulle
0 500	1 : 2,000	»	»	7 7	12 gr 0
0 333	1 : 3,000	»	4 gr 8	»	15 4
0 335	1 : 3,000	»	5 6	»	18 3

L'iode ne devient un infertilisant efficace qu'à la dose de 1 : 600 environ.

Action de l'iode sur l'Urococcus Van Tieghemi

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de:			
		3 jours	6 jours	9 jours	un mois
2 gr 500	1 : 400	»	»	»	nulle
2 500	1 : 400	»	»	»	nulle
2 »	1 : 500	»	»	»	3 gr 6
2 »	1 : 500	»	»	»	nulle
1 666	1 : 600	»	»	»	nulle
1 333	1 : 750	»	»	»	6 gr 1
1 333	1 : 750	»	»	»	3 0
1 000	1 : 1,000	2 gr 1	»	14 gr 5	»
1 000	1 : 1,000	»	»	15 0	19 9
0 500	1 : 2,000	18 5	»	»	»

L'acide borique commence à entraver la biogénèse de l'ammoniaque sous le poids de 1 : 500; à des doses plus faibles, son action est moins certaine; quoi qu'il en soit, les

fermentations par l'Urocoque désigné traînent et se prolongent souvent pendant fort longtemps.

Action de l'acide borique sur l'Urococcus Van Tieghemi

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
2 gr 000	1 : 500	»	»	»	4 gr 6
2 000	1 : 500	»	»	»	1 9
2 000	1 : 500	»	»	»	3 9
1 333	1 : 750	»	»	»	4 2
1 333	1 : 750	»	»	»	8 3
1 000	1 : 1,000	»	»	11 gr 1	»
1 000	1 : 1,000	»	»	5 8	14 3
0 666	1 : 1,500	5 gr 4	»	»	10 5
0 500	1 : 2,000	»	6 gr 7	13 3	15 9
0 500	1 : 2,000	7 1	»	»	8 6

Enfin, l'acide phénique ne saurait passer, à bon droit, pour un infertilisant digne d'attirer l'attention, puisque les fermentations ammoniacales déterminées par l'Urocoque de Van Tieghem peuvent s'établir et marcher très rapidement dans les milieux liquides où cette substance se trouve dissoute à la dose de 1 et 2 grammes pour 1,000.

Action de l'acide phénique sur l'Urococcus Van Tieghemi

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
10 gr 000	1 : 100	»	»	»	3 gr 3
6 666	1 : 150	»	»	»	2 4
5 000	1 : 200	»	»	5 gr 4	»
5 000	1 : 200	»	»	»	7 1
4 000	1 : 250	»	»	»	4 7
3 333	1 : 300	»	»	9 6	10 0
2 500	1 : 400	»	»	»	5 3
2 500	1 : 400	»	»	»	14 3
2 000	1 : 500	4 gr 8	15 gr 0	»	»
2 000	1 : 500	»	16 6	»	»
1 000	1 : 1,000	6 3	17 5	19 8	»

Les diverses expériences qui précèdent peuvent être condensées dans le tableau suivant :

Doses minima de quelques antiseptiques capables de s'opposer efficacement à la fermentation d'un litre d'urine artificielle par l'Urococcus Van Tieghemi.

Substances	Poids par litre	Titre des solutions
Biiodure de mercure . . .	0 gr 020	1 : 50,000
Bichlorure de mercure . .	0 025	1 : 40,000
Sulfate de cuivre	0 066	1 : 15,000
Iode	1 666	1 : 600
Acide borique	2 000	1 : 500
Acide phénique	6 666	1 : 150

Dans mes recherches statistiques, longtemps prolongées sur les ferments de l'air, du sol et des eaux, j'ai trouvé cinq espèces de micrococcus non colorés, fort voisins de l'espèce dont l'histoire précède.

Je vais en donner brièvement les principaux caractères. Quelques-uns d'entre eux, les *Urococcus* β et γ, ont fait l'objet d'une courte monographie dans l'*Annuaire de l'observatoire de Montsouris* pour l'an 1889 (page 502 et suivantes).

Urococcus β

Ce micrococcus est un ferment lent, trouvé pour la première fois dans l'eau du drain de Saint-Maur, et plus tard dans les eaux de rivières. Il apparaît au microscope en chaînes, souvent assez longues, de cellules globulaires, dont le diamètre des grains est voisin de 1,2 μ. Ensemencé dans l'urine normale, il se développe assez lentement et détermine après une attente de 20 jours la disparition à peu près totale de l'urée de ce liquide animal. Cet organisme peut de même se cultiver dans les urines artificielles et dans le bouillon de peptone qu'il trouble en donnant un dépôt abondant.

Introduit par piqûre dans la gélatine ordinaire, il produit à la surface de cette substance une tache blanc de lait qui peut acquérir un diamètre de 5 millimètres ; puis la gélatine se liquéfie en entonnoir en donnant une masse visqueuse, mucilagineuse, qui a de la difficulté à couler,

même quand on renverse le vase. Sur la gélatine chargée d'urée, ce microorganisme se développe en clous chétifs et peu fournis qui n'entraînent jamais la liquéfaction du *substratum*.

Urococcus γ

Organisme très répandu dans l'air atmosphérique, constitué par des cellules sphériques de 1 μ de diamètre, réunies deux à deux ou en chaînes de 5, 6, 7 μ de longueur et quelquefois davantage.

Porté dans l'urine humaine il y croît rapidement en provoquant un trouble intense. Il en détermine la fermentation complète en 10 à 12 jours, il se cultive, également très bien, dans les urines artificielles en y produisant l'hydratation de 20 grammes d'urée en 10 jours, soit de 2 grammes d'urée en 24 heures; il croît aisément dans les bouillons et la plupart des liquides nutritifs chargés de substances azotées organiques.

Piqué sur la gélatine ordinaire, il produit à sa surface de petites taches blanches, convexes, et, dans le parcours du fil de platine, des traînées également blanches formées par l'agglomération de petites colonies sphériques. Il liquéfie très lentement la gélatine en *infundibulum*. Au bout de 6 mois, c'est à peine si la liquéfaction a gagné 1 centimètre de terrain, tant en hauteur qu'en largeur. Enfin l'*Urococcus* γ se développe facilement dans la gélatine chargée d'urée en taches et traînées blanches qui provoquent la formation d'un brouillard de cristaux dans la masse.

Urococcus μ

L'*Urococcus* μ est formé par des cellules sphériques très petites, n'atteignant pas 1 μ de diamètre. Ces cellules sont habituellement isolées ou groupées de diverses façons par l'effet du hasard. Semé dans le bouillon de peptone, l'*Uro-*

coccus μ s'y développe dès le lendemain, en produisant un trouble intense, auquel succède une prompte décoloration du bouillon. Introduit dans l'urine naturelle, l'*Urococcus* μ croît avec beaucoup plus de difficultés, tandis qu'il se multiplie très activement dans les urines peptonisées artificielles, en y provoquant l'hydratation de 1 gr. 5 environ d'urée par 24 heures. Il s'agit donc ici d'un ferment peu actif.

Cette espèce croît bien sur la gélatine ordinaire, sur le lichen et la gélose ; elle envahit rapidement la surface de ces substances nutritives, en donnant un enduit grisâtre, translucide et muqueux. La végétation de l'Urocoque μ est plus pénible sur les milieux chargés d'urée ; ce n'est qu'à la longue que les piqûres et les colonies s'entourent de cristaux en haltères. Les gélatines ne sont jamais liquéfiées.

Urococcus ρ

Cette espèce urophage trouvée dans les eaux d'égouts est constituée par des cellules sphériques de 1,5 μ de diamètre; ordinairement ces cellules sont isolées les unes des autres. L'*Urococcus* ρ se développe du jour au lendemain dans la plupart des milieux nutritifs, il donne dans les bouillons un dépôt blanc abondant, et souvent à la surface de ce milieu liquide, les pellicules assez épaisses, toutefois plus minces et plus dissociables que celle que fournit le *Bacillus subtilis*.

Sur la gélatine et la gélose, ce microcoque se multiplie très rapidement entre 20 et 22 degrés, en y formant des enduits d'un blanc d'albâtre légèrement rosé. Son action sur l'urée est remarquablement lente ; en 40 jours il ne peut terminer la fermentation de l'urine artificielle renfermant 20 grammes d'urée; son pouvoir fermentaire est donc inférieur à celui qui correspondrait à l'hydratation de 0 gr. 50 d'urée par jour et par litre.

La gélatine peptonisée n'est pas visiblement liquéfiée par ce coccus, qui, au lieu d'y former comme beaucoup d'espèces des plaques saillantes et convexes, en fournit qui

s'affaissent progressivement en y creusant, à la longue, une sorte de puits qui peut acquérir 4 à 5 millimètres de profondeur. Quand on examine une colonie de cet urocoque noyée dans de la gélatine, directement au-dessus d'elle on voit la surface de la gelée s'ombiliquer comme si elle était vivement attirée par la colonie ; si les colonies souterraines sont nombreuses, la surface de la gélatine semble capitonnée.

Les cristaux en haltères n'apparaissent jamais autour des végétations fournies par ce microorganisme ; ainsi donc, la diagnose de cette espèce, comme ferment de l'urée par la gélatine chargée de carbamide, est rendue impossible.

Urococcus ν

Contrairement à l'*Urococcus* μ, l'espèce que je considère ici ne se développe que très faiblement dans les divers milieux nutritifs mis en usage dans les laboratoires de bactériologie ; lorsqu'elle se développe dans les bouillons et la gélatine de peptone, chargée ou non d'urée, elle se présente au microscope en coccus agglomérés en tas irréguliers formés d'un assez grand nombre de cellules ; ces sphérules atteignent à peine la longueur de 1 μ. Dans les vieilles cultures elles s'hypertrophient et peuvent acquérir un diamètre voisin de 2 μ.

L'*Urococcus* ν ne se développe jamais dans les urines humaines normales stérilisées à froid ; très rarement on le voit croître dans ces mêmes urines stérilisées à 110 degrés, c'est-à-dire devenues alcalines. Cette espèce ne trouve donc pas son champ de culture dans ce liquide animal. Portée dans le bouillon de peptone ordinaire, c'est à peine si ce dernier louchit légèrement ; au bout de 8 à 10 jours, on observe au fond du vase un dépôt blanc léger, un peu muqueux. Cependant le bouillon de peptone altéré renferme assez d'urase pour hydrater sous le volume de 1 litre une dizaine de grammes d'urée pure.

Les cultures de cette espèce sur la gélatine sont de

même très pauvres; piquée au fil de platine, elle donne un clou blanc chétif, mettant à se former une quinzaine de jours; puis la végétation reste stationnaire. Sur la gélatine additionnée de carbamide, la culture est encore plus pauvre; cependant, après 20 jours d'attente, on voit apparaître l'auréole de cristaux caractéristiques à peu de distance des traces et des colonies; cette auréole ne s'étend jamais bien loin dans le *substratum*.

L'*Urococcus* ν détermine la fermentation de 16 grammes d'urée en 25 jours; si les urines sont chargées d'une quantité d'urée plus considérable, le pouvoir fermentaire de cette espèce diminue considérablement; dans les urines qui titrent 30 grammes d'urée par litre, ce ferment ammoniacal se montre, seulement, capable de détruire 8 à 9 grammes d'urée.

L'*Urococcus Van Tieghemi*, les *Urococcus* β, γ, μ, ρ et ν sont absolument anaérobiens; placés dans des milieux privés d'oxygène ils ne peuvent visiblement s'y développer, et l'urée n'est pas touchée. Dans quelques essais, l'*Urococcus Van Tieghemi* avait déterminé à l'abri de l'air, dans un liquide resté magnifiquement limpide, une alcalinité correspondant à 2 gr. 6, 1 gr. 2, 1 gr. 6; mais on sait que ces débuts d'hydratation sont dus à des traces d'oxygène qui favorisent un commencement de développement de l'espèce, et dont il est très difficile de débarrasser les milieux de cultures.

(*A suivre.*)

SUR UNE VARIÉTÉ PARTICULIÈREMENT CHROMOGÈNE DU *BACILLUS PYOCYANEUS*

PAR

ED. DE FREUDENREICH

Tous les travaux que j'ai lus sur le bacille du pus bleu mentionnent le fait que ce microorganisme produit, quand on l'ensemence sur pomme de terre, un enduit brun. J'ai fréquemment pu constater l'exactitude de cette assertion ; et tout au plus constate-t-on parfois la présence d'une ou quelques petites taches vertes sur les bords de la colonie, fait sur lequel M. Charrin a appelé l'attention dans une récente communication à la Société de biologie. Cependant, l'été dernier, en recherchant, d'après la méthode de Vincent (v. ces *Annales*, II, p. 384), le bacille typhique dans une eau suspecte, je vis le bouillon de quelques ballons prendre une teinte verte. J'y trouvai, à l'état de pureté, un bacille qui, inoculé sur pomme de terre, donna au début une colonie brune ; après 2 jours, elle prit une teinte vert foncé qui se communiqua peu à peu à toute la pomme de terre. Tous les microbes décrits dans l'ouvrage de M. Eisenberg (*Bakt. Diagnostik*) comme produisant un pigment vert ayant la propriété de croître sur pomme de terre sous forme d'un enduit brun, je crus d'abord avoir affaire à une nouvelle espèce chromogène ; mais, en l'étudiant de plus près, je constatai qu'à part sa croissance sur la pomme de terre, tous ses caractères devaient le faire considérer comme identique avec le bacille pyocyanique. Ses cultures présentent, en particulier, l'odeur absolument caractéristique de celle du pus bleu. Ce bacille se présente sous la forme de courts bâtonnets de 1 μ à 1,5 de long sur 0,6 μ de large. Il est très mobile. Sur les plaques de gélatine on voit de petites colonies rondes creusant la

gélatine et s'étendant assez rapidement. Dans l'intérieur de la gélatine, on voit un noyau jaune brun ; les bords ont des reflets argentés ; à la surface, quand la gélatine est un peu liquéfiée, le noyau n'est presque pas visible ; les bords sont granuleux, argentés. Sur gélose le bacille produit une strie grise s'étendant rapidement ; toute la gélose prend très vite une teinte verte fluorescente très prononcée.

Le bouillon devient aussi vert et fluorescent. Ces caractères sont, on le voit, si on y ajoute l'odeur caractéristique, ceux du bacille pyocyanique ; seule, la culture sur pomme de terre est différente. A 35° la colonie se montre sous forme d'aspect brunâtre pendant les 2 premiers jours. A partir de ce moment, on voit ci et là des points verts apparaître, la colonie continuant à s'agrandir. Après 7 jours, la colonie tout entière est verte, et le reste de la pomme de terre verdit aussi. La coloration verte devient si foncée avec le temps qu'elle paraît presque brune. Des cultures du *Bacillus pyocyaneus* α et de la variété décrite par M. Ernst sous le nom de *Bacillus pyocyaneus* β inoculées simultanément sur des pommes de terre de même espèce restèrent toujours brunes, et jamais je ne vis la pomme de terre verdir dans sa totalité.

L'action pathogène de mon bacille était très peu marquée. Deux lapins, en effet, inoculés l'un dans la veine de l'oreille, l'autre sous la peau, résistèrent parfaitement. Son pouvoir vaccinant à l'égard du charbon se montra nul dans quatre expériences, pouvoir que possède le *Bacillus pyocyaneus* ordinaire, ainsi qu'il résulte des expériences de M. Bouchard et des miennes (v. ces *Annales*, I, p. 467).

Ces quelques différences me paraissent légitimer la conclusion qu'il s'agit d'une variété du bacille pyocyanique, se distinguant surtout par l'intensité de ses fonctions chromogènes. On pourrait peut-être la désigner comme *Bacillus pyocyaneus* γ puisque l'on connaît déjà les variétés α et β.

---

(1) *Zeitschrift fur Hygiene*, II, p. 369.

SUR LA POSSIBILITÉ DE RETARDER CONSIDÉRABLEMENT

LA PROPAGATION DES BACTÉRIES

A TRAVERS

LES FILTRES EN BISCUIT

Par le Dr P. MIQUEL

Dans une note publiée dans le dernier numéro des *Annales de Micrographie*, j'ai dit que l'Industrie arriverait certainement à perfectionner le pouvoir stérilisateur du biscuit, à retarder au moins pendant quelque temps le passage des bactéries à travers la porcelaine, quand ces filtres sont alimentés avec des eaux relativement sales, comme celles du canal de l'Ourcq, quelques eaux de rivières puissamment contaminées, etc.

J'ai signalé la première de ces eaux comme renfermant des bactéries capables de traverser le biscuit en moins de 48 heures et ajouté qu'on pourrait, peut-être, remédier à cet inconvénient grave en recouvrant les bougies de substances aptes à retenir les impuretés vaseuses qui viennent s'accumuler à leur surface.

Quelques essais ont démontré que ces vues étaient justes, et que l'Industrie pouvait aisément obtenir des prolongations de stérilisation de 10 et même 15 jours, avec les eaux les plus impures. Les filtres formés d'éléments en biscuit sont donc perfectibles, c'est simplement ce que je veux établir.

Un réservoir d'une quinzaine de litres de capacité est rempli d'eau de l'Ourcq et rechargé tous les 2 ou 3 jours; cette eau de l'Ourcq est celle que reçoit le robinet de la cour de l'ancienne caserne Lobeau : elle est jaune verdâtre et boueuse, inodore, mais, certainement, les animaux la boiraient avec répugnance. De ce réservoir, qui n'est pas à niveau constant, partent deux tuyaux d'inégale longueur, conduisant cette eau *stagnante* sur deux éléments en bis-

cuit : l'un nu, c'est-à-dire en contact direct avec l'eau de l'Ourcq, est *stérilisé au préalable* à 100°. La pression sur la paroi extérieure du biscuit est environ de 1 mètre d'eau.

Voici ce que l'on observe :

Expérience I

	Débit par jour en c. m. c.	Température moyenne	Bactéries par c. m. c.
Départ à 4 h. du soir	»	»	0
Après 23 heures	1,182	17°,2	0
» 47 »	1,002	15 2	20
» 3 jours	960	15 6	beaucoup
» 4 »	822	15 8	très nombreuses
» 5 »	650	15 7	extrêmement nombreuses

L'autre élément est entouré par une couche de gros sable de 2 à 3 centimètres d'épaisseur, sur lequel l'eau de l'Ourcq ne parvient qu'après avoir traversé un cylindre de 10 centimètres de longueur, contenant une hauteur de 7 centimètres de sable fin et 3 centimètres environ de charbon animal ordinaire. Cet élément *n'est pas stérilisé* avant l'expérience; l'eau y arrive avec une pression de 1m,50.

Voici les résultats obtenus :

Expérience II

	Débit par jour en c. m. c.	Température moyenne	Bactéries par c. m. c.
Départ à 3 heures	»	»	0
Après 1 jour	882	16°,1	1 (1)
» 2 jours	930	16 3	0
» 3 »	954	16 2	0
» 6 »	1,050	16 3	0
» 7 »	1,110	16 9	0
» 8 »	1,098	17 0	0
» 9 »	1,146	17 2	0
» 10 »	1,362	17 0	0
» 12 »	1,428	17 7	60
» 13 »	1,740	17 2	nombreuses
» 14 »	1,602	15 2	très nombreuses
» 15 »	1,516	15 6	très nombreuses

(1) Cette bactérie est due à l'introduction fortuite d'un germe aérien pendant l'ensemencement des plaques.

Que remarque-t-on en comparant les essais I et II? On constate :

1° Que le biscuit seul ne stérilise plus l'eau de l'Ourcq stagnante au bout de 48 heures, tandis que le biscuit entouré de gros sable et préalablement débarrassé de ses plus grosses impuretés stérilise la même eau pendant 11 jours environ;

2° Que dans l'espace de 5 jours le débit de l'élément de biscuit nu diminue à peu près de moitié, alors que le biscuit protégé débite deux fois plus d'eau après 15 jours qu'après le premier.

J'ignore si la porcelaine traversée par les eaux pures filtre plus rapidement après quelques jours d'usage qu'au début; je crois que, dans l'expérience qui précède, il faut, surtout, mettre l'augmentation du débit sur le compte de l'expulsion lente et progressive de l'air enfermé dans le sable et le charbon animal.

Les expériences III et IV ont été exécutées dans les mêmes conditions que les expériences I et II.

L'élément nu de nouveau stérilisé et remis en expérience fournit les résultats suivants :

Expérience III

	Débit par jour en c. m. c.	Température moyenne	Bactéries par c. m. c.
Départ à 4 heures	»	»	0
Après 1 jour	1,452	18°,0	0
» 2 jours	1,470	16 0	0
» 3 »	1,242	19 7	3
» 4 »	1,104	19 8	beaucoup
» 5 »	996	19 4	très nombreuses

Ces résultats confirment simplement ceux de l'expérience I avec cette différence que l'infection de l'eau filtrée n'a été constatée qu'après le 2e jour.

L'élément entouré de sable est stérilisé avec le tube qui le précède dans l'expérience II; puis, il est vissé sur ce tube de 10 centimètres un second tube de 15 centimètres renfermant une hauteur de 2/3 de sable fin pour 1/3 de charbon animal. Ce tube supplémentaire n'est pas stérilisé.

EXPÉRIENCE IV

	Débit par jour en c. m. c.	Température moyenne	Bactéries par c. m. c.
Départ à 4 h. du soir	»	15°,6	0
Après 1 jour	»	15 8	0
» 2 jours	»	15 7	0
» 4 »	1,584	15 8	0
» 5 »	1,968	18 0	0
» 6 »	2,622	16 2	0
» 7 »	2,406	19 7	0
» 8 »	2,322	19 8	0
» 9 »	2,244	19 4	0
» 11 »	2,730	19 5	0
» 12 »	2,958	19 8	24
» 13 »	2,688	20 0	nombreuses

Dans cette 4e expérience, c'est encore après le 11e jour que les bactéries ont apparu dans l'eau filtrée ; il semble donc que la colonne filtrante de sable supplémentaire de 15 centimètres n'a pu retarder d'une façon sensible l'infection de l'eau filtrée.

Conclusions. — Ainsi, avec de l'eau de l'Ourcq stagnante, la plus impure qu'on puisse se procurer à Paris après l'eau d'égout, une bougie nue, qui peut à peine s'opposer au passage des bactéries après une attente de 48 heures, devient capable de stériliser pendant 11 à 12 jours, quand elle est dirigée au préalable dans un tube renfermant une colonne de 10 centimètres cubes de sable ou de charbon animal.

Ces essais, à mon sens, sont loin de résoudre la question de la stérilisation prolongée des eaux impures par les filtres en biscuit. Ils démontrent cependant que ces filtres sont perfectibles et qu'on arrivera, je crois, à en obtenir qui pourront retenir les bactéries au moins pendant un mois, sinon davantage.

REVUES ET ANALYSES [1]

R. Stern. — **De la désinfection du canal intestinal** (*Zeischrift für Hygiene u. Infections krankheiten*, XII, p. 88)

Les grands progrès réalisés dans la chirurgie grâce à l'antisepsie avaient fait naître l'espoir que l'on pourrait aussi appliquer les méthodes de cette dernière au traitement des maladies internes dues à une invasion microbienne. Les affections de l'intestin, en particulier, semblaient appropriées à ce mode de traitement, car quoi de plus naturel que de chercher à débarrasser le canal intestinal des hôtes malfaisants qu'il héberge par une désinfection énergique. Le problème n'est cependant pas facile à résoudre et, bien qu'on l'ait abordé déjà de plusieurs côtés, les résultats sont loin d'être concluants. On peut d'abord, comme l'a fait M. Bouchard, étudier en dehors de l'organisme l'action des antiseptiques sur les microbes, déterminer en même temps les doses toxiques pour les animaux d'expérience et expérimenter selon les résultats obtenus avec les désinfectants qui paraîtraient tuer les microbes sans nuire au malade.

Mais, comme le fait observer avec raison M. Stern, les résultats obtenus *in vitro* dans des bouillons de culture et dans le corps de l'animal ne seront pas toujours applicables à l'homme ; de plus, ce qui sera vrai pour un microbe donné ne sera pas vrai pour l'autre. En outre, s'il est facile de déterminer la dose nécessaire d'un antiseptique pour stériliser un litre de bouillon de culture, il l'est beaucoup moins de déterminer la quantité nécessaire pour stériliser le contenu intestinal, car c'est là un facteur essentiellement variable, et la dose qui serait suffisante un jour pourrait ne plus l'être le lendemain.

On peut encore chercher à déterminer la valeur des antiseptiques par les résultats cliniques. Malheureusement, les remèdes qui donnent aux uns d'excellents résultats se montrent impuissants entre les mains des autres, et on n'a qu'à comparer la diversité des résultats obtenus par les différents expérimentateurs pour voir que cette méthode ne peut guère servir de base à une théorie expérimentale de la désinfection intestinale.

---

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

D'autres ont cherché à déterminer l'action microbicide des antiseptiques proposés en procédant à des énumérations des bactéries contenues dans les fèces avant et après l'ingestion des médicaments. Ces numérations sont toutefois sujettes à caution, car, ainsi que le démontre M. Stern, le nombre des microbes de l'intestin peut énormément varier d'un jour à l'autre, sans médication aucune, même quand aucun changement n'est apporté à l'alimentation ; aussi est-il probable que les diminutions dans le chiffre des bactéries que quelques auteurs ont cru pouvoir rapporter à l'action d'une substance médicamenteuse étaient dues à des causes fortuites et inconnues. Dans ses expériences, du moins, avec le β-naphtol, le thymol et le calomel, M. Stern n'a constaté aucune diminution dans le nombre des bactéries des fèces. Pour étudier l'action des antiseptiques intestinaux, l'auteur s'est servi d'une méthode nouvelle et assez originale. Il a d'abord fait ingérer à des personnes dont la digestion était normale et à d'autres atteintes d'affections intestinales des cultures de *Bacillus prodigiosus*, après s'être assuré par des expériences faites sur lui-même de sa parfaite innocuité. Ensuite ces personnes étaient soumises à différents traitements : calomel, salol, naphtaline, β-naphtol et camphre, et l'on constatait ensuite par des cultures sur plaques si le *prodigiosus* se retrouvait vivant dans les fèces. Ce bacille, en raison de la facilité avec laquelle on reconnaît ses colonies, se prêtait tout particulièrement à une expérience de ce genre. L'expérience ayant démontré que, même sans administration d'aucun médicament, le *prodigiosus* disparaît souvent des selles après 30 heures, on en faisait ingérer de nouvelles doses toutes les 24 heures.

Le résultat fut le même dans tous les cas : toujours il fut possible de retrouver le *prodigiosus* vivant dans les selles pendant toute la durée du traitement. Ces résultats ne sont donc guère encourageants et montrent qu'il n'est pas facile de réaliser une véritable antisepsie de l'intestin. L'auteur a choisi, en effet, un microorganisme qui n'est pas doué d'une résistance particulière : il est, il est vrai, plus résistant à l'action de l'acide chlorhydrique que le bacille du choléra, mais il l'est moins, par contre, que le bacille typhique, ainsi qu'il résulte d'expériences de l'auteur et de M. Hamburger. On pourrait peut-être lui objecter qu'il n'est pas nécessaire de tuer les microbes pathogènes parvenus dans l'intestin et qu'il suffira d'empêcher leur développement ; mais l'auteur nous répondra, non sans raison, que, si les microbes du contenu intestinal ne sont pas tués par ces moyens, il sera bien plus difficile encore d'exercer une action sur ceux qui ont pénétré dans les parois intestinales comme, par exemple, les bacilles du typhus et du choléra. Dans tous les cas, la méthode employée par M. Stern pour juger de la valeur d'un antiseptique intestinal constitue un progrès sur celles dont on s'était servi jusqu'ici et permettra, en variant un

peu les conditions, d'étudier avec toute la rigueur scientifique désirable l'action des désinfectants sur le contenu de l'intestin.

E. F.

Prof. F. Loeffler. — **Sur des épidémies parmi les souris de l'Institut hygiénique de Greifswald et sur un moyen de combattre la plaie des souris des champs** (*Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde,* XI, p. 129.

L'auteur décrit deux épidémies ayant sévi parmi les souris tenues à l'Institut hygiénique de Greifswald. La première était due au bacille de la septicémie des souris. On ne put découvrir comment ce microorganisme avait fait irruption, mais la propagation de la maladie se faisait par la voie stomacale, les souris s'infectant en mangeant les cadavres de celles atteintes par la maladie.

La seconde, très meurtrière, puisque sur 45 souris tenues dans une cage, 31 y succombèrent, était causée par un bacille non encore décrit et se propageait, ainsi que les expériences ultérieures le démontrèrent, également par la voie stomacale. A l'autopsie, la rate était presque constamment tuméfiée ; de petites hémorragies étaient fréquentes dans la muqueuse de l'intestin, et les glandes mésentériques étaient aussi tuméfiées. Dans la rate et le foie, quelquefois aussi dans le sang du cœur, on trouvait régulièrement le même microorganisme un bacille dont voici les principaux caractères.

Sur la gélatine inoculée par strie, on constate déjà après 24 heures de petits points incolores. Après 24 heures, les colonies sont blanchâtres, rondes et à reflets bleuâtres. Après 3-4 jours, elles atteignent, quand elles ne sont pas trop rapprochées, un diamètre de 3-4 mm. Leur forme ronde disparaît, et leur bord devient dentelé ; en même temps, la gélatine se trouble légèrement.

Dans les cultures sur plaques, les colonies sont granuleuses et ridées, quoique un peu moins que les colonies typhiques. Sur gélose, ce bacille forme un enduit grisâtre et peu caractéristique. Le sérum se recouvre d'un enduit transparent. Sur pomme de terre sa croissance est assez caractéristique ; il forme un gazon blanchâtre, peu épais, dans l'entourage duquel la pomme de terre, prend une teinte bleuâtre. Dans le bouillon sucré, il y a production de gaz. Il croît bien dans le lait, mais sans en modifier l'apparence ; la réaction en devient assez acide.

Dans les coupes d'organes, on trouve le bacille en groupes dans les vaisseaux capillaires. Dans l'organisme, ce bacille est court et ressemble à celui de la diphtérie des pigeons. Dans les cultures, on voit aussi des formes plus longues et filamenteuses. Il est mobile et possède des flagella qui se colorent de la même façon que ceux

du bacille typhique, mieux encore avec un mordant un peu plus alcalinisé. On ne constate pas la formation de spores. En raison de sa ressemblance avec le bacille typhique, M. Loeffler propose de l'appeler *Bacillus typhi murium*.

Les souris qui s'infectent en mangeant les cadavres de celles ayant succombé à cette maladie meurent en 1 à 2 semaines et ne paraissent malades que 2 jours avant la mort. La souris des champs est également sensible à l'action de ce bacille. L'inoculation sous la peau entraîne la mort en peu de jours.

La souris des champs constituant une véritable plaie dans beaucoup de contrées, M. Loeffler pense qu'on pourrait se servir avec avantage de ce bacille pour la détruire, en semant sur les champs infectés des graines ou des morceaux de pains imbibés de cultures de ce microorganisme. Il ne semblerait pas en résulter de danger pour d'autres espèces animales, car ni les chats, ni différents oiseaux chanteurs, ni les poules, ni les pigeons, ni les cobayes, ni les lapins ne meurent quand on leur inocule le bacille par la voie stomacale. Une inoculation sous-cutanée, par contre, peut faire mourir les cobayes, les pigeons et les oiseaux, mais pas les lapins.

Cette épidémie, qui était apparue pour la première fois en 1890, se montra encore deux fois dans le courant de 1891 et ne put être arrêtée que par l'isolement des souris.

Au moment où nous corrigeons les épreuves de cette analyse, nous pouvons ajouter que l'attente de M. le Professeur Loeffler s'est déjà pleinement réalisée. Au mois de mars de cette année une partie de la Thessalie fut envahie par des myriades de souris des champs. L'activité de ces petits rongeurs est effrayante ; en une nuit, ils peuvent enlever une moisson entière ; ils coupent les épis et les transportent dans leurs trous, et le matin la moisson a totalement disparu. Appelé par le gouvernement grec, M. Loeffler se rendit en Thessalie avec un assistant. Tout d'abord, il s'assura que les souris de Thessalie étaient aussi sensibles au virus. Il fit faire ensuite des cultures en grand dans des décoctions de paille additionnées de peptone et de sucre, milieu dans lequel le bacille se développe très bien, et en imprégna de grandes quantités de pain coupé en morceaux que l'on introduisit dans les trous des souris. Les premiers essais eurent lieu dans les environs de Larissa. Nous avons dit plus haut que le bacille, introduit dans les voies digestives, est pathogène pour la souris, ainsi que l'avait établi M. Loeffler dans ses précédentes expériences, tandis que tous les autres animaux qu'il avait employés étaient restés réfractaires. Dans leur zèle, les aides que le gouvernement avait mis à la disposition de M. Loeffler avalèrent de ce pain pour rassurer les paysans quant au danger d'une infection éventuelle. Or aucun de ceux qui se soumirent à cette expérience n'en fut incommodé, ce qui démontrerait la parfaite innocuité du bacille pour l'homme. Les souris mangèrent le

pain avec avidité, et, après neuf jours, déjà, on constata, dans les champs traités, que les dévastations causées par les souris s'arrêtaient. On ne trouvait, en effet, plus d'épis récemment coupés dans les trous. On découvrit alors de nombreux cadavres de souris, présentant toutes les lésions typiques et dont les organes contenaient le bacille. On constata aussi que, même en liberté, les souris rongent les cadavres des souris ayant succombé à l'infection, ce qui fait que l'épidémie causée par le bacille se propage sûrement. Il ne restait plus qu'à appliquer la méthode en grand, dans toutes les contrées infectées. C'est ce que firent les aides auxquels M. Loeffler avait appris les méthodes de culture et d'infection. Les résultats paraissent avoir été excellents, car à la fin de mai on informait M. Loeffler que partout les souris succombaient à l'infection.

Nous ne pouvons qu'engager nos lecteurs à lire le très intéressant rapport que M. Loeffler a publié sur sa mission en Grèce dans le *Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 4.

W. Dunbar. — **Recherches sur le bacille typhique et le *Bacillus coli communis*** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, p. 485).

Toutes les méthodes usitées pour la recherche du bacille typhique dans les eaux potables reposent sur l'adjonction de substances (acide phénique, etc.) que l'on suppose entraver le développement des microbes banals, tandis qu'elles ne s'opposeraient pas à la croissance du bacille d'Eberth. Or, en étudiant comparativement le bacille typhique et le *Bacillus coli communis* qui se trouve presque nécessairement mêlé dans l'eau au bacille typhique, puisqu'il se trouve régulièrement dans les déjections des malades, l'auteur arrive au résultat que ce dernier supporte mieux que le bacille d'Eberth toutes les adjonctions aux milieux nutritifs que l'on a préconisées pour faciliter la recherche du bacille typhique. Donc, en les employant, on facilitera encore plus la croissance du *Bacillus coli communis* que celle du bacille du typhus.

Voici textuellement ses conclusions :

1° « Parmi les méthodes recommandées pour faciliter l'isolement du bacille typhique d'une eau quelconque il ne s'en trouve aucune donnant des résultats utiles. Presque toutes ont pour conséquence d'influencer la croissance du bacille pseudo-typhique que l'on rencontre le plus souvent et dont les colonies se distinguent sur gélatine ordinaire des colonies typhiques par un développement plus abondant et plus rapide, de telle façon que le retard apporté par cela à son développement le rend encore plus semblable au bacille typhique. On ne peut donc espérer aucun bon résultat des méthodes usitées

jusqu'ici pour isoler le bacille typhique et qui ont pour but d'entraver la croissance des microbes étrangers.

2° Pour identifier une colonie avec le bacille typhique on ne peut plus aujourd'hui se contenter des cultures sur pomme de terre et gélatine, ni de leurs différences morphologiques. Il est indispensable de déterminer aussi si ces bacilles croissent dans le lait stérilisé sans le cailler et s'ils ne développent pas de gaz dans le bouillon. Le *Bacillus coli communis* que l'on peut, le plus facilement, confondre avec le bacille typhique, caille le lait et produit des gaz à 37° en quelques heures dans le bouillon de viande sans aucune adjonction. Pour constater la production de gaz, l'auteur recommande l'emploi de tubes en U scellés à un de leurs bouts. »

Ces conclusions sont bien peu encourageantes pour le bactériologiste auquel on envoie fréquemment des échantillons d'eau pour y rechercher le bacille d'Eberth ; mais nous devons avouer qu'elles sont en parfaite harmonie avec nos propres observations. Jamais encore il ne nous est arrivé de constater avec certitude la présence du bacille typhique dans une eau contaminée ; cependant nous avons souvent eu à le rechercher. Toujours, par contre, quand l'eau était suspecte, nous y avons, au moyen des méthodes de Vincent, Parietti, etc., retrouvé le *Bacillus coli communis*.

E. F.

Dr Brieger, Dr Kitasato et Dr Wassermann. — **Sur l'immunité et l'état réfractaire aux toxines** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XII, p. 137).

Dans cet important mémoire, les auteurs communiquent des faits nouveaux et originaux de nature à augmenter notablement nos connaissances en matière d'immunité. Nous avons déjà eu l'occasion de parler des récents travaux de MM. Behring et Kitasato sur ce sujet ; desquels il semble ressortir, avec une probabilité toujours plus grande, que, pour certaines maladies microbiennes du moins, l'état réfractaire consiste dans une qualité toxinicide du sérum de sang qui acquiert le pouvoir de neutraliser les virus sécrétés par les microbes. Différents faits leur ayant fait supposer que certaines cellules jouent un rôle prépondérant dans la production de ces substances toxinicides, ils dirigèrent leurs études du côté des glandes, telles que le thymus, le corps thyroïde, etc., et recherchèrent si des substances toxinicides pourraient en être extraites. Ils commencèrent par étudier l'action de ces substances sur les toxines microbiennes en dehors de l'organisme, et, encouragés par les résultats obtenus, ils cherchèrent à les appliquer à la production d'un état réfractaire chez les animaux d'expérience. Après

quelques tâtonnements, ils s'en tinrent au thymus. Pour en extraire les substances actives, ils le hachent et le triturent, et en expriment le suc avec une presse à viande. Ce suc stérilisé — il est nécessaire d'ajouter un peu de bicarbonate de soude pour éviter la formation d'un coagulum — est alors ajouté à des bouillons de culture que l'on ensemence alors avec les bactéries étudiées, et on examine l'action de cette adjonction sur les cultures. Ils observèrent alors le fait curieux que le bacille du tétanos, par exemple, croît dans un tel bouillon, mais qu'il y perd sa virulence. Ils virent ensuite que ces extraits, ajoutés à des cultures en plein développement, en détruisent la virulence. En continuant à expérimenter, ils découvrirent alors que l'immunité peut être conférée en injectant aux animaux des cultures mélangées préalablement avec ces substances toxinicides. Il serait trop long d'énumérer les nombreuses expériences auxquelles les auteurs durent se livrer pour arriver à ces résultats intéressants. Nous allons cependant chercher à résumer les faits principaux qui se dégagent des séries d'expériences entreprises au sujet de différentes maladies infectieuses.

Tétanos. — Comme nous l'avons dit, le microbe du tétanos, cultivé dans des bouillons additionnés d'extrait de thymus, perd de sa virulence. La production de poison tétanique tomberait, dans ces milieux, à 1/5000 jusqu'à 1/3000 de la virulence habituelle. Non seulement la production du virus est notablement réduite sur ces milieux, mais l'extrait de thymus ajouté à une culture virulente détruit, dans une mesure considérable, la virulence, quand on le laisse agir pendant un certain temps (24 heures). Les cultures privées de virulence par ce procédé confèrent l'immunité aux animaux (injection pendant 15 jours de doses croissantes, 1 à 10 cmc. du mélange). Cette méthode d'immunisation est suivie de succès dans 100 p. 100 des cas. A son tour, le sérum de sang des animaux ainsi immunisés confère l'immunité, comme le sérum du sang des animaux rendus réfractaires par la méthode de M. Behring.

Choléra. — Le virus cholérique paraît résister mieux à l'action toxinicide du thymus, car les cultures de choléra dans des bouillons additionnés d'extrait de thymus sont encore toxiques. Mais, en les chauffant 15 minutes à 65°, la virulence disparaissait presque entièrement, tandis que l'action immunisante persiste. Les cobayes ayant reçu pendant 3 jours 1 cmc. de ce bouillon de culture ainsi chauffé supportent des doses mortelles de cultures virulentes. Ici l'état réfractaire s'acquiert très vite, car déjà après 24 heures de traitement on peut injecter sans dommage le double de la dose mortelle de culture virulente. Le procédé d'immunisation se rapproche ici d'un traitement curatif. La maladie cholérique évoluant chez les cobayes en 24 heures, les auteurs n'ont pas pu faire la preuve de la vertu *curative* de ce traitement, mais ils estiment

que l'on pourrait amener une guérison en commençant le traitement après l'infection seulement, si l'on pouvait expérimenter sur des animaux que le virus cholérique ne ferait mourir qu'après quelques jours de maladie. L'immunité ainsi obtenue dure 2 mois. Les cultures non additionnées de thymus et chauffées 15 minutes à 65°, par contre, sont encore virulentes, et, même inoculées à petites doses, ne confèrent jamais l'immunité. De ces expériences, comme de celles sur le tétanos, il semble résulter que les principes toxiques et immunisants sont tout à fait différents.

Diphtérie. — L'addition d'extrait de thymus au bouillon diminue aussi notablement la virulence du bacille diphtéritique, pas assez cependant pour que l'on puisse inoculer des doses assez massives pour immuniser l'animal. Mais en chauffant ces cultures à 65°-70° pendant 15 minutes, on en détruit toute la toxicité, tandis que l'action immunisante persiste. Inoculées préventivement à des cobayes, elles les rendent, dans la majorité des cas, réfractaires au virus diphtéritique. Il est à noter que, quand on leur inocule celui-ci, on retrouve des bacilles diphtéritiques vivants au point d'inoculation, qui se nécrose régulièrement. Le bacille diphtéritique vit donc dans les tissus, mais l'organisme rendu réfractaire supporte sans dommage le virus sécrété par le bacille.

Pour le choléra et la diphtérie, les auteurs se sont servi, pour l'immunisation, de cultures dans des bouillons additionnés de thymus. Pour le tétanos, ils se servaient plutôt d'un mélange de culture virulente et d'extrait, parce que le bacille tétanique ne se cultive qu'avec difficulté dans les milieux additionnés de thymus.

Typhus. — Au sujet du typhus, les auteurs partagent l'opinion généralement acceptée que les cultures typhiques ne sont pathogènes pour les animaux que par intoxication. En employant la même méthode que pour le choléra, ils réussirent à rendre leurs animaux (souris et cobayes) réfractaires au virus typhique. La preuve que c'est bien l'extrait de thymus qui est ici aussi l'agent efficace, c'est que les cultures typhiques dans le bouillon pur, chauffées à 60°, comme celles additionnées d'extrait de thymus, n'immunisent pas les cobayes et rarement seulement les souris. Le sérum des animaux rendus réfractaires au virus typhique confère également l'immunité.

Érysipèle. — Au sujet de cette maladie, les auteurs ne purent faire que peu d'expériences. Il en résulte cependant que l'extrait de thymus exerce aussi une action toxinicide sur ce virus.

Dans les maladies appartenant au type des septicémies, comme le charbon et le rouget, les auteurs eurent de moins bons résultats; ce qui s'explique, car à une action toxique se joint dans ces maladies l'action mécanique des microbes proliférant avec abondance dans les organes.

Pour le *charbon*, ils ne réussirent jamais à donner l'immunité au

moyen de leur méthode, tout au plus constatèrent-ils quelques fois une résistance un peu plus grande chez les animaux traités.

Dans le *rouget*, le traitement préventif habituel ne réussit pas non plus à conférer l'immunité ; cependant, les animaux traités mouraient, généralement, 1 à 2 jours plus tard que les animaux de contrôle. En intercalant alors entre le traitement préventif et l'inoculation des cultures virulentes une inoculation d'un virus affaibli. ils virent tous leurs animaux devenir réfractaires au virus fort. On peut, il est vrai, procurer aussi l'immunité par l'inoculation de cultures affaiblies, mais pas avec la même sûreté que quand on a commencé par inoculer des cultures ayant crû dans des bouillons additionnés d'extrait de thymus.

De ces expériences il résulte ainsi clairement que certaines cellules de l'organisme sécrètent des substances toxinicides. Les bactéries étant elles-mêmes des cellules, les auteurs se demandèrent si là il n'y aurait pas aussi des substances toxinicides. Le succès a, paraît-il, répondu à leur attente ; et ils citent quelques expériences à l'appui, en se réservant de publier plus tard l'ensemble de leurs travaux. La question de l'immunité entre, on le voit, dans une phase pleine d'avenir, et on peut même prévoir que la guérison des maladies infectieuses sera peut-être bientôt une question résolue.

Après avoir exposé les résultats obtenus par ces savants allemands, il n'est que juste de rappeler qu'ils ont été précédés dans cette voie par M. Vaillard, dont les publications paraissent leur être restées inconnues. Cet auteur a fait, en effet, le 21 février 1891, et le 6 juin de la même année, deux communications importantes à la Société de biologie, sur l'immunité contre le tétanos et sur les propriétés du sérum des animaux rendus réfractaires au tétanos. Bien que les auteurs allemands aient cru que, depuis que MM. Kitasato et Behring étaient parvenus à conférer au lapin l'immunité contre le tétanos par l'inoculation de cultures de bouillon suivies d'injection de trichlorure d'iode, personne n'avait réussi à immuniser les animaux doués d'une réceptivité complète, il résulte, au contraire, de ces publications de M. Vaillard, que celui-ci était parfaitement arrivé à ce résultat sur le cobaye, animal des plus sensibles au tétanos. Rappelons que la méthode de M. Vaillard consiste à introduire dans le sang des doses massives de cultures filtrées, chauffées à des températures progressivement décroissantes, 60°, 55°, 50°, puis des quantités graduellement augmentées de cultures filtrées dont la toxicité est entière. De même M. Vaillard a pu immuniser ses animaux par l'injection de cultures tétaniques filtrées additionnées d'eau iodée à 1/500. M. Vaillard avait également étudié les qualités antitoxiques du sérum de sang des animaux ainsi immunisés.

E. F.

Dr Francesco Sanfelice. — **Contribution à l'étude des bactéries pathogènes aérobies et anaérobies qui se trouvent régulièrement dans la terre.** (*Annali dell' Instituto d'Igiene sperimentale della R. Università di Roma*, vol. I, fasc. IV, p. 365.)

L'auteur nous donne dans ce travail une étude soigneuse des microbes du sol, tant aérobies qu'anaérobies. Pour ce qui est de la technique et du détail des expériences, nous renvoyons le lecteur à l'original, et nous nous bornons à transcrire ici les conclusions de cet intéressant mémoire.

1° On trouve constamment dans le sol des bactéries pathogènes aérobies et anaérobies. Parmi les premières se trouve un bacille que l'on peut appeler *Bacillus pseudo-œdematis maligni*, parce qu'il provoque chez les animaux d'expérience une forme de septicémie dont les symptômes anatomo-pathologiques ressemblent beaucoup à celui de l'œdème malin, et le *Streptococcus septicus*. Parmi les seconds se trouvent le bacille de l'œdème malin et celui du tétanos ;

2° Il ne suffit pas d'une seule inoculation à un animal d'expérience pour faire le diagnostic bactériologique d'un échantillon donné de terre, vu que l'animal succombe à l'infection due à celui des microorganismes contenus dans ce terrain, qui est susceptible de le tuer dans le plus bref délai ;

3° En abandonnant à elle-même une émulsion de terre dans de l'eau à la température ordinaire pendant plusieurs mois ou en l'exposant à l'action d'une température élevée, on détruit le bacille aérobie du pseudo-œdème, et une seconde inoculation de cette terre peut faire constater la présence des germes de l'œdème malin ou du tétanos ;

4° Pour reconnaître la présence des germes du tétanos dans une terre qui contient aussi ceux de l'œdème malin, il faut l'ensemencer dans du bouillon, tenir celui-ci à l'étuve pendant quelque temps et en inoculer le *filtratum*, à diverses reprises, dans le tissu sous-cutané d'un cobaye. (Il résulte, en effet, des expériences de l'auteur que la tétanotoxine qui s'est développée dans la culture impure et qui passe à travers le filtre suffit pour donner le tétanos au cobaye) ;

5° Dans les examens bactériologiques faits de terre prélevée dans l'intérieur de la ville ou dans les environs, on ne trouva jamais de bacille virulent du charbon symptomatique. On put, par contre, isoler du tissu sous-cutané de cobayes inoculés avec différents échantillons de terres, ou avec diverses émulsions de terre dans du bouillon tenu quelque temps à l'étuve, des anaérobies pareils au bacille du charbon symptomatique, pour ce qui est de leur mode de développement dans les différents terrains de culture et de leur aspect microscopique, mais dénués de virulence ;

6° Les produits solubles dans les cultures de bouillon du bacille

aérobie du pseudo-œdème, du bacille de l'œdème malin et du bacille du charbon symptomatique peuvent rendre les animaux d'expériences réfractaires aux inoculations de cultures virulentes des mêmes bacilles. Les produits solubles du bacille du tétanos ne sont pas vaccinants. (On sait, toutefois, que M. Vaillant y est arrivé en chauffant les cultures d'après un certain procédé. De même MM. Brieger, Kitasato et Wasserman ont constaté le pouvoir vaccinifère de cultures tétaniques faites sur des milieux additionnés d'extraits de thymus. — E. F.) ;

7° Tant dans le tissu sous-cutané des animaux inoculés avec diverses terres que dans les émulsions de terre dans du bouillon tenues quelque temps à l'étuve, l'on trouve des anaérobies non pathogènes qui peuvent être groupés autour des trois espèces anaérobies pathogènes, savoir : les pseudo-bacilles de l'œdème malin, les pseudo-bacilles du charbon symptomatique et les pseudo-bacilles du tétanos ;

8° Les produits solubles des cultures dans le bouillon des anaérobies non pathogènes du sol, ressemblant aux bacilles de l'œdème malin et du charbon symptomatique, rendent les animaux réfractaires aux inoculations de cultures virulentes du bacille du pseudo-œdème, de l'œdème malin et du charbon symptomatique, mais non pas aux inoculations du bacille du tétanos. Il en est de même des anaérobies se rattachant au groupe du tétanos ;

9° Le fait sus-mentionné parle en faveur de l'hypothèse que les anaérobies non pathogènes du sol ne seraient pas autre chose que les espèces pathogènes ayant perdu leur virulence, ce qui serait confirmé par le fait d'avoir trouvé dans le sol le bacille de l'œdème malin atténué ;

10° Les produits solubles des anaérobies du sol étant vaccinigènes, cela explique le fait que le bouillon des émulsions de terre tenu quelque temps à l'étuve et filtré à la bougie Chamberland rend les cobayes réfractaires aux inoculations des bactéries pathogènes du sol, sauf à celles du bacille du tétanos ;

11° Les bactéries anaérobies pathogènes et non pathogènes se trouvent également réparties à la surface du sol et à diverses profondeurs.

E. F.

Prof. E. Klein et Dr C.-F. Coxwel. — **Contribution à la question de l'immunité.** (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, XI, p. 464.)

On connaît déjà quelques procédés permettant d'abolir l'immunité naturelle d'un animal à l'égard du charbon ; ainsi, les rats, qui y sont réfractaires d'habitude, le contractent quand ils sont préalablement soumis au jeûne ou à l'influence de la fatigue.

D'après MM. Klein et Coxwell, la narcose chloroformique produirait le même effet, et ils citent une série d'expériences dans lesquelles des rats, inoculés avec du virus charbonneux pendant la narcose, contractaient le charbon. Le résultat est le même quand on soumet l'animal au chloroforme une demi-heure à 4 heures après l'inoculation ; cependant, plus on retarde l'emploi du chloroforme, plus la mort survient tard aussi. Quand la narcose a précédé de plus d'une demi-heure l'inoculation, l'immunité naturelle n'est pas atteinte.

Ce procédé ne leur a pas donné de résultats positifs dans d'autres maladies que le charbon.

E. F.

Dr R. Wollny. — **Des milieux de culture contenant des matières albuminoïdes stérilisées sans le secours de la chaleur** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XI, p. 752.)

Un certain nombre de substances propres à la culture des bactéries ne supportent pas la stérilisation par la chaleur. On peut, il est vrai, les recueillir d'une façon aseptique, comme le sang par exemple, mais l'opération n'est pas facile, ou bien les purger de germes par la filtration, mais ce procédé n'est pas toujours applicable ; ainsi le lait, quand on le filtre à la bougie Chamberland, laisse sur le filtre toute la graisse et la plus grande partie de la caséine.

Pour parer à ces difficultés, M. Wollny a essayé de tuer les bactéries par des moyens chimiques et d'enlever ensuite la substance bactéricide chimique.

Après avoir essayé diverses substances il s'est arrêté à l'éther éthylique. En ajoutant 10-12 0/0 de cette substance à un milieu de culture, on le stérilise sûrement en peu de temps et on peut le faire disparaître facilement à l'aide d'une pompe pneumatique, vu qu'il bout à des températures qui ne coagulent pas l'albumine. M. Wollny s'est servi avec succès de ce procédé pour stériliser du suc de poumons, de reins, de foies, de pommes de terre, du sang, de l'urine, du lait, etc. On clarifie par décantation ou filtration après avoir laissé l'éther en contact pendant le temps voulu avec le liquide à stériliser ; on enlève l'éther en chauffant à 35°-40° sous la cloche pneumatique et on ajoute une dissolution concentrée de gélose (3 0/0) ou de gélatine (15 à 20 0/0). S'il se forme un peu d'acide acétique par l'oxydation de l'éther, on neutralise avec de la soude. Pour le lait, on ajoute un peu de soude caustique pour dissoudre la caséine et obtenir un milieu transparent.

E. F.

Dr F. Fischel et Dr C. Enoch. — **Contribution à l'étude des poisons produits par des poissons** (*Fortschritte der Medicin*, X, p. 277).

On a constaté quelquefois des intoxications à la suite de l'ingestion de poissons, et l'on admet généralement qu'il s'agit là d'un empoisonnement causé par les substances toxiques produites par la putréfaction des poissons. Les faits étudiés par l'auteur montrent cependant qu'il ne serait pas impossible que des bactéries soient parfois la cause directe de la maladie.

Ayant eu l'occasion d'examiner une carpe qui venait de mourir dans un réservoir en présentant de nombreuses ecchymoses sur le dos, les opercules, ainsi que les nageoires du dos et caudale, MM. Fischel et Enoch isolèrent du sang du cœur un bacille particulier, qui semble bien, dans ce cas, avoir causé la mort.

Dans la goutte pendante, ce microorganisme se présente sous la forme de bâtonnets immobiles, de 1, 2 à 3 μ de longueur, et larges de 1/4 de μ. Il sont isolés ou par chaînes de 4-5 individus. Ils donnent des spores endogènes Pour les colorer, on se sert avec le plus d'avantage du bleu de méthylène ; ils ne se décolorent pas quand on emploie le procédé de Gram. Pour colorer les spores, on emploie d'abord la fuchsine de Ziehl (2 minutes), puis le bleu de méthylène avec l'acide sulfurique (3/4 de minute).

Sur plaques de gélatine, les colonies deviennent visibles de 54 heures à 3 jours après l'ensemencement, et commencent à liquéfier la gélatine 34 heures plus tard. Vues sous le microscope, les colonies sont rondes, avec un bord dentelé et une surface granuleuse. Elles sont d'un brun jaunâtre.

Sur gélose inclinée il se forme, à 37°, déjà après 18 heures, un enduit blanchâtre, opalescent. Dans les cultures par piqûre, la croissance est très faible le long de celle-ci, tandis que la surface se couvre d'un enduit blanchâtre.

Dans les cultures par piqûre sur gélatine, la croissance est également très faible le long de la piqûre ; mais la liquéfaction commence à la surface et envahit toute la surface en 10 jours.

Sur pomme de terre, à 37°, on constate après 24 heures un léger enduit qui épaissit dans la suite et devient grisâtre et un peu visqueux. Le bacille ne croît pas sur ce milieu à la température de la chambre.

Il croît aussi sur sérum solidifié, mais pas dans le sérum liquide.

Le bouillon est trouble, à 37°, déjà après 12 heures; après 36 heures il se forme une pellicule, qui tombe plus tard au fond du vase. Le bouillon exhale une odeur intense de lait brûlé.

Dans le lait, on remarque une décoloration dans la partie supérieure qui devient translucide ; au bout de 20 jours (à 37°) tout le lait a subi cette transformation (peptonisation). Il en est même à 10°, mais le processus marche plus lentement.

Dans les œufs inoculés avec ce bacille, le blanc d'œuf devient très fluide, tandis que les couches externes du jaune sont dures comme cuites. Mais sa croissance dans ce milieu est très peu abondante. Pour croître abondamment, ce bacille a, on le voit, besoin d'oxygène.

Lorsqu'on inocule 1/4 à 1/2 centimètre cube d'une culture du bouillon de 3 jours à une carpe, l'animal semble d'abord stupéfié pendant quelques minutes. Il se remet ensuite, mais 6 à 12 heures plus tard des ecchymoses se montrent sur le dos, les nageoires et les opercules. L'animal périt alors, et les cultures du sang donnent le même bacille. Quand on inocule des spores seules et en petite quantité (émulsion d'une culture sur agar dont les bacilles ont été tués par un chauffage de 2 minutes à 100°), on ne remarque aucun malaise de suite après l'inoculation, mais 24 à 28 heures après les poissons meurent avec ecchymoses et bacilles dans le sang.

En raison du fait qu'une maladie bactérienne d'un poisson n'a, au dire des auteurs, pas encore été décrite, ils proposent pour ce microorganisme le nom de *Bacillus piscicidus*.

Lorsqu'on inocule des cultures de bouillon de ce bacille par la voie sous-cutanée à des souris et à des cobayes, l'animal paraît malade déjà après une 1/2 heure. La respiration devient difficile et l'animal meurt, selon sa taille en 5-16 heures. Quand on inocule les spores seules, la mort ne survient qu'après 18-22 heures.

Les pigeons sont réfractaires.

A l'autopsie des animaux ayant succombé à l'infection, on constate une extravasation au point d'inoculation. Les organes internes ne présentent généralement aucune altération.

Le fait que l'inoculation des cultures de bouillon produit des perturbations immédiates qui manquent quand les spores seules sont inoculées indiquait que les accidents dus à ce microbe sont le fait non seulement des toxines produites par le microbe dans le corps, mais aussi par celles formées dans les milieux de culture. Les auteurs réussirent, en effet, à isoler des cultures une substance consistant en une poudre grisâtre, soluble dans l'eau, mais pas dans l'alcool ni dans l'éther, et que ces réactions démontrent devoir être une albumose. L'inoculation de cette substance aux animaux d'expérience amène leur mort avec les symptômes qui accompagnent l'inoculation du microorganisme.

Chez les animaux à sang chaud, cette toxine paralyse les centres respiratoires et vaso-moteurs. Les auteurs remarquèrent à cet égard que l'action du cœur survit quelque temps à la respiration. Inoculé par la voie stomacale à des souris, cette toxine les rend malades, mais ne les fait succomber que quand la dose est de 0,4 gramme de la toxine isolée des bouillons de culture. Des chiens auxquels on fit avaler un bouillon préparé avec la carpe ayant servi à ces expériences furent pris de violente diarrhée, l'un, en outre, de

vomissements, symptômes qui persistèrent tant qu'on leur fit prendre de ce bouillon.

Pour prouver que c'est bien cette toxine qui est la cause des accidents, les auteurs examinèrent si elle est aussi présente dans les organes des animaux inoculés. Ils réussirent, en effet, à isoler de ceux-ci la même toxine, seulement plus violente encore que celle extraite des cultures.

MM. Fischel et Enoch terminent leur travail par les conclusions suivantes :

1° Les poissons sont sujets à une infection de nature bactérienne ;

2° Il est probable qu'elle se produit spontanément par l'intermédiaire des spores, qui pénètrent probablement à la suite de lésions fortuites ;

3° Les symptômes de cette infection peuvent être attribués à la production d'un poison, et ce poison qui se forme dans le corps de l'animal est une albumose ;

4° Celle-ci est identique à la toxalbumose que les mêmes bactéries produisent quand elles vivent à l'état de saprophytes ;

5° L'intoxication peut aussi atteindre quelques animaux à sang chaud ; dans ce cas, elle se manifeste par une paralysie des centres respiratoires et vaso-moteurs et par une parésie des extrémités ;

6° L'intoxication peut aussi procéder du canal intestinal, quand on fait ingérer des quantités suffisantes de toxine ;

7° Cette toxine est détruite par la cuisson ;

8° Une mauvaise préparation des poissons destinés à être mangés pourrait aussi rendre possible un empoisonnement chez l'homme.

E. F.

E. Suchsland. — **Sur la fermentation du tabac. Communication préliminaire** (*Berichte der deutschen botan. Gesellschaft*, XI, p. 79).

Avant de faire des feuilles de tabac des cigares, on leur fait subir une fermentation préalable qui s'obtient en les empilant en tas très serrés. C'est pendant cette fermentation que le tabac acquiert l'arôme cher aux fumeurs. Longtemps on a cru qu'il s'agissait là d'un processus purement chimique, mais M. Suchsland a constaté que cette fermentation est due à l'œuvre des microbes. Chaque espèce de tabac paraît avoir ses microbes particuliers et, en inoculant une espèce bactérienne propre à un tabac sur un autre tabac, on communiquerait à celui-ci pendant sa fermentation, le goût et l'odeur qui distinguent le tabac auquel elle a été empruntée. Du tabac cultivé en Allemagne, que l'on avait fait

fermenter à l'aide de microbes recueillis sur des espèces plus fines, aurait été tellement amélioré par cela que même des connaisseurs s'y seraient trompés. Il s'agirait donc, si les résultats obtenus par l'auteur se confirment, d'un processus analogue à celui que l'on étudie pour donner aux vins le bouquet des bons crûs en les faisant fermenter à l'aide des levures spéciales à ces derniers.

E. F.

Prof. Lewascheff. — **Les parasites du typhus exanthématique** (Wratsch, 1892, n° 11 et 17)

A l'occasion d'une épidémie de typhus exanthématique ayant sévi à Kasan, l'auteur a constaté, dans le sang retiré de la pulpe du doigt et de la rate, la présence de micrococcus munis d'un long flagellum au moyen duquel ils se meuvent avec rapidité. Souvent ils ont deux flagella. Dans le flagellum on remarque parfois des nodosités plus claires. Il put également les cultiver, mais seulement dans du sérum de sang humain, additionné de 1 p. 100 d'agar et tenu à 36-37°. Les cultures ne se développent que dans la piqûre, mais pas à la surface. Dans les cultures, les micrococcus sont souvent par deux ou en chaînettes et sans flagellum. Dans les cultures jeunes, cet appendice se voit cependant. Le flagellum est 6 à 60 fois plus long que le micrococque. Quand les cultures sont tenues, de suite après l'inoculation pendant 24 heures à la température de la chambre, avant d'être mises à l'étuve, rien ne croît. M. Lewascheff propose d'appeler *Micrococcus exanthematicus* ce microorganisme qu'il croit être le premier à avoir observé. Nous rappellerons cependant à cet égard le travail de MM. Thoinot et Calmette paru dans le numéro de janvier 1892 des *Annales de l'Institut Pasteur;* ceux-ci ont vu et décrit en effet, dans des cas de typhus exanthématique, des microorganismes identiques à ceux retrouvés par le savant russe. La comparaison de leurs dessins ne laisse subsister aucun doute sur ce point et, bien que MM. Thoinot et Calmette n'aient pas réussi à cultiver ce microbe, la priorité de la découverte leur revient bien certainement. Mais, tandis qu'ils y ont vu plutôt un filament muni d'un renflement terminal, M. Lewascheff a fait voir qu'il s'agit d'un microcoque et de son flagellum. Quant au rôle étiologique de ce microorganisme, il reste naturellement encore à prouver.

E. F.

A. Palleske. — De la teneur en bactéries du lait de femme (*Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie u. für klinische Medicin*, vol. 130, p. 185).

On admet généralement que la glande mammaire de la femme secrète un lait absolument pur de germes, sauf le cas, bien entendu, de maladies dans le cours desquelles des bactéries pourraient pénétrer dans la circulation générale, et de là dans les sécrétions.

Dans un précédent travail, MM. Cohn et Neumann ont toutefois exposé les résultats d'expériences desquelles il résulterait que le lait de femme contiendrait constamment ou du moins presque toujours des microorganismes. M. Palleske a repris cette question en se servant des mêmes procédés. Après avoir lavé le mamelon au sublimé et à l'alcool et l'avoir épongé avec de la ouate stérilisée, il en faisait jaillir quelques gouttes dans un tube de gélatine dont il faisait une plaque d'Esmarch. MM. Cohn et Neumann ayant constaté que les premières gouttes étaient toujours plus riches en germes que les suivantes, M. Palleske laissait couler les premières gouttes pour nettoyer le canal excréteur des microbes qui auraient pu y pénétrer du dehors. Dix fois sur 22, le lait se montra contaminé par le staphylocoque blanc en nombre variable. M. Palleske n'y rencontra pas d'autres microbes. Dans les 12 autres cas, le lait se montra stérile. Ces résultats sont un peu plus faibles que ceux des auteurs précités qui avaient trouvé le lait contaminé dans 85 p. 100 des cas; mais ils suffisent pour montrer que le lait est loin d'être toujours secrété à l'état absolument stérile. Je dois dire que ce résultat ne m'étonne guère, car j'ai moi-même montré dans de précédents travaux combien il est difficile de recueillir un lait de vache ou de chèvre tout à fait pur de germes, même quand on le recueille au moyen d'une canule stérilisée. On peut différer d'avis quant à leur origine, mais le plus probable me paraît qu'ils pénètrent du dehors par le canal excréteur et qu'ils ne sont pas amenés par le torrent circulatoire. C'est ce que prouve le fait que mieux on nettoie le canal excréteur par une traite préalable, plus le lait recueilli devient pauvre en germes jusqu'à se montrer tout à fait stérile dans quelques cas.

MM. Cohn et Neumann avaient aussi constaté que le lait était d'autant plus riche en germes qu'il avait séjourné plus longtemps dans la glande mammaire. M. Palleske est moins affirmatif à cet égard, car quelquefois il trouvait moins de germes après 3 heures qu'après 1 heure. Ce ne serait, du moins, pas le seul facteur de l'augmentation de leur nombre.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Décembre* 1892

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 48 du 27 Novembre au 3 Décembre 1892.	3.000	2.000	6°,4	10mm,4	SW	15km,0	128	130
N° 49 » 4 Décembre » 10 » » .	2.000	2.000	1 ,7	10 ,8	NW	15 ,5	127	136
N° 50 » 11 » » 17 » » .	835	2.340	5 ,8	11 ,6	SW	17 ,3	122	196
N° 51 » 18 » » 24 » » .	3.500	850	— 0 ,1	»	NE	8 ,1	103	168
N° 52 » 25 » » 31 » » .	2.350	170	— 3 ,9	»	NE	11 ,3	109	180
MOYENNES ET TOTAUX	2.335	1.470	2°,0	32mm,8	N	13km,4	589	810
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Décembre 1892. Bactéries = 8.000 Moisissures = 4.700 Température = 2°,0

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Décembre 1892. Bactéries = 217 Moisissures = 111 Température = 9°,3

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Décembre* 1892

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Décembre 1892	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	1.090	1.240	10°,4	Canalis. = 6.200 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	34.650	2.900	9°,2	Canalis. = 3.000 »
» » » »	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	102.000	58.550	4°,1	»
» de la Seine à Ivry	54.000	56.185	4°,4	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	69.000	73.500	»	Hauteur = $2^m,35$
» de la Seine au pont de l'Alma	168.000	177.625	»	»
» d'autres provenances.	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	129.000	76.545	3°,6	»
» d'autres provenances.	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Eau du puits Raviot à Choisy.	32.000	»	»	»
» du puits de la rue du Port à Argenteuil.	50.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur.	»	2.375	»	»
» d'Argenteuil (Gennévilliers) . .	»	11.195	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	20.500.000	16.270.000	7°,9	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	90.000.000	29.645.000	»	»
» » traitée à Bondy.	1.450.000	55.020	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

Dr F. Abba. — Contributo allo studio del *Bacillus coli communis* et del *Bacillus pyogenes fœtidus*. Contribution à l'étude du *Bacillus coli communis* et du *Bacillus pyogenes fœtidus* (*Annali dell' Istituto d'igiene sperimentale della R. Università di Roma*, II, p. 393).

Duclaux. — Sur les phosphates du lait (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 2).

Lesage et Macaigne. — Étude bactériologique du choléra observé à l'hôpital Saint-Antoine en 1892 (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 18).

Schlœsing, fils. — Sur les échanges d'acide carbonique et d'oxygène entre les plantes et l'atmosphère (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 28).

Rœser. — De la formation d'aldéhydes dans la fermentation alcoolique (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 41).

Roux et Vaillard. — Contribution à l'étude du tétanos (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 65).

Vincent. — Sur les résultats de l'association de streptocoques et du bacille typhique chez l'homme et les animaux (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 141).

Mlle C. Everard et MM. Jean Massart et Dernoor. — Sur les modifications des leucocytes dans l'injection et l'immunisation (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 165).

Vermischeff. — Recherches sur les microbes acétifiants (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 213).

L'Éditeur-Gérant : Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*) (1)

Par le Dr P. MIQUEL

§ III. — Description des espèces

Urococcus Dowdeswelli *sive* Urococcus λ

A côté des micrococcus constitués par des cellules sphériques on en rencontre assez fréquemment dont la forme est ovalaire. Ces espèces, comme les coccus circulaires, présentent une faible résistance à la chaleur, sont immobiles; en un mot, leurs affinités et leur morphologie les sépare assez nettement des bacilles. A ce groupe d'espèces appartient le ferment lactique décrit par M. de Freudenreich (2), et c'est dans ce groupe que je place l'*Urococcus* λ, que je dédie à la mémoire du savant anglais Dowdeswell que la mort vient de ravir prématurément à la science.

Habitat de l'Urococcus Dowdeswelli. — Ce micrococcus a été distingué, pour la première fois en 1886, parmi les poussières atmosphériques que j'analyse journellement à la place Saint-Gervais. Depuis, je l'ai cherché et aisément trouvé dans les eaux de rivières, surtout dans le sol et notamment dans les terres arables des communes suburbaines de Paris; on peut également le retirer de la vase de la Seine, et des sédiments abondants que laisse déposer

(1) Voir les tomes précédents de ces *Annales*.
(2) De Freudenreich, *Annales des Micrographie*, t. III, p. 257.

l'eau de l'Ourcq abandonnée à elle-même. Ce ferment a principalement son habitat dans la couche superficielle de l'humus qui varie de quelques centimètres à 30 centimètres de profondeur.

L'obtention de ce microbe à l'état de pureté absolue n'est pas toujours une opération aisée et rapide, elle peut réclamer un mois de recherches ininterrompues ; mais bien d'autres espèces se trouvent dans le même cas ; l'essentiel pour l'expérimentateur est de suivre, dans les manipulations réclamées par le triage des microbes, une méthode rationnelle capable de le conduire, pas à pas, au but désiré. Comme je n'ai pas encore eu ici l'occasion de décrire les procédés qui permettent d'isoler du sol les ferments ammoniacaux je vais les indiquer brièvement.

C'est en 1880, que j'inaugurais les recherches statistiques sur les bactéries du sol ; on trouvera, du reste, la description des procédés que j'employais à cette époque dans l'*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'an 1892 (1); quelques légères modifications de détail ont été apportées au *modus faciendi* ancien ; mais le principe de ces analyses est resté le même, il est basé sur l'émulsion aussi parfaite que possible des particules constituant les terres avec de l'eau stérilisée.

Dans le cas qui nous occupe, les terres, les boues ou la vase seront préalablement étendues en couches minces sur des plaques en porcelaine flambées, puis désséchées à 30° à l'abri de l'air dans un courant d'air sec et filtré : on emploie pour cela une cloche à deux tubulures latérales posée sur une plaque rodée et une trompe de laboratoire. Au bout de 24 heures on pulvérise la terre dans un mortier de biscuit flambé et on la tamise à travers une toile métallique offrant 4 mailles par millimètre carré ; on se débarrasse ainsi des détritus les plus grossiers, des grains de sable volumineux, etc... La poudre recueillie dans le tambour du tamis est étalée sur une nacelle de platine, et séchée encore pendant 24 heures dans un courant privé de vapeur d'eau ; finalement on la repasse au mortier, on la tamise

(1) Voir aussi *Bulletin de la Société botanique de France*, 2e série, t. III, p. 44, juin 1881.

à travers une toile métallique présentant 9 à 12 mailles par millimètre carré, et cette poussière est alors assez fine pour l'émulsion qu'on se propose de faire.

Pendant cette opération du desséchement de la terre à la température de 30°, une assez grande quantité d'espèces bactériennes perdent leur vitalité ; ce sont surtout les microbes appelés autrefois *Bacterium*, quelques bacilles asporogènes et aussi plusieurs micrococcus fragiles, parmi lesquels ne se trouve pas compris l'*Urococcus Dowdeswelli.*

Quant on veut faire l'analyse qualitative et quantitative exacte des microorganismes du sol, celui-ci doit être délayé humide au mortier, émulsionné, puis faire l'objet d'ensemencements appropriés. Une partie de la terre non utilisée à cette opération, pesée, séchée, puis pesée de nouveau, servira à faire connaître le poids réel de terre, de vase ou de boue employée dans le dosage quantitatif, car j'estime indispensable à l'exacte comparaison de ces sortes d'analyses la détermination rigoureuse du poids de la substance solide bactérifère, après sa perte complète d'eau à 100°.

Peu importe que le sol contienne peu ou beaucoup de gravois, le but de l'analyste étant de déterminer le chiffre exact des bactéries par gramme de substance ; d'ailleurs, en éliminant les détritus solides ou insolubles, on fausse les résultats, car l'analyste doit tenir exactement compte de tous les éléments contenus dans le sol.

Quand il s'agit d'analyses purement qualitatives, de semblables précautions sont inutiles : on effectue les émulsions aussi fines que possible avec la terre fraîche mondée de ses plus grosses impuretés, et dans le cas où on veut rechercher, comme ici, un organisme qui résiste à la dessiccation, à la température ordinaire, on dessèche la terre, ce qui peut la priver par gramme d'une centaine de mille de bactéries, dont l'absence favorise les opérations du triage.

La terre émulsionnée est alors diluée à 1 : 100,000 ou à 1 : 1,000,000, puis un centimètre cube de cette dilution est mélangé avec dix centimètres cube de gélatine fondue chargée de 2 p. 100 d'urée ; le chiffre des colonies écloses sur les plaques doit être assez faible pour qu'on puisse aisément les surveiller individuellement pendant 15 à 20 jours.

On étudie alors toutes les colonies auréolées en rejetant celles qui sont formées par des bactéries filamenteuses, ou des micrococques à cellules nettement sphériques. On conserve, au contraire, et on ensemence dans des milieux carbamidés celles qui sont jaunâtres et se montrent constituées par des cellules ovalaires.

Ces diverses colonies sont presque toujours impures; après la fermentation des liquides qui les ont reçues, on procède à une seconde purification et à une troisième, si cela paraît nécessaire jusqu'à l'accomplissement régulier de l'hydratation de l'urée.

Fonctions physiologiques de l'Urococcus Dowdeswelli. — Cette espèce microscopique croît assez bien dans l'urine humaine normale purgée de germes à la température du laboratoire; cependant, son action sur l'urée de ce liquide animal est très lente durant les premiers jours qui suivent l'ensemencement. Je citerai comme exemple typique de ces sortes de fermentations celle que je relève dans mes cahiers à la date du 29 avril 1889.

Un flacon d'urine stérilisée par la bougie Chamberland reçoit le 29 avril au soir quelques gouttes d'une culture de l'*Urococcus* λ dans le bouillon de peptone.

30 *avril.* — Rien d'apparent.

1er *mai.* — L'urine est trouble dans le 1/3 inférieur du vase, absolument limpide dans les 2/3 supérieurs.

2 *mai.* — Le trouble est devenu général; mais la zone supérieure est moins trouble que la zone moyenne, et cette dernière moins trouble que la zone inférieure. L'urine agitée répand une odeur franchement ammoniacale. Un dosage accuse la disparition de 4 gr. 3 d'urée par litre.

3 *mai.* — Louche très léger, dépôt devenu abondant. 8 gr. 9 d'urée hydratée.

5 *mai.* — L'urine est parfaitement claire, les parois verticales du flacon sont parsemées de magnifiques cristaux. Le poids d'urée disparue égale 17 gr. 6.

7 *mai.* — La limpidité du liquide est toujours absolue, un dosage accuse la disparition de 17 gr. 6 d'urée. La fermentation est achevée.

Le 8 *avril* 1890. — Un an après, l'urine devenue rougeâtre, mais restée claire, possède une odeur ammoniacale encore vive. Le carbonate d'ammonium présent dans la liqueur ne correspond plus qu'à l'hydratation de 8 gr. 3 d'urée. Le ferment est mort.

J'ai provoqué avec cette espèce un faible nombre de fermentations d'urine normale stérilisée à 110° ; voici les trois essais pratiqués en vases clos avec une urine de même provenance, contenant environ 18 grammes d'urée par litre.

Urine normale stérilisée à 110°

	Urée disparue par litre		
	I	II	III
Après 1 jour	»	3 gr 4	2 gr 0
» 2 jours	7 gr 5	7 7	6 4
» 3 »	11 4	12 1	11 0
» 4 »	15 3	17 6	16 3
» 5 »	18 3	18 3	18 2

Dans l'urine humaine la fermentation marche donc assez rapidement, et environ à raison de la destruction de 4 grammes d'urée par jour et par litre.

Dans le bouillon de peptone additionné de 2 p. 100 d'urée, la fermentation est un peu plus rapide, les 20 grammes d'urée sont totalement hydratés au bout de 4 jours.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Urine artificielle chargée de 20 *grammes d'urée par litre*

	Urée disparue par litre					
	I	II	III	IV	V	VI
Après 1 jour	5 gr 0	5 gr 2	6 gr 0	4 gr 9	6 gr 4	4 gr 8
» 2 »	10 7	11 9	»	11 0	13 8	10 5
» 3 »	15 3	16 2	18 5	» »	17 7	16 0
» 4 »	19 8	20 0	»	19 7	19 8	20 1

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Urine artificielle chargée de 20 *grammes d'urée par litre*

	Urée disparue par litre :					
	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Après 1 jour	4 gr 6	3 gr 9	6 gr 2	6 gr 1	4 gr 7	5 gr 4
» 2 jours	9 8	9 6	12 3	11 7	»	11 3
» 3 »	14 7	»	17 4	16 8	»	16 3
» 4 »	18 6	19 8	19 9	19 9	19 6	19 9

Si on compare les fermentations qui précèdent avec celles

que peut déterminer dans les mêmes conditions l'*Urococcus Van Tieghemi*, on observe :

Que pendant les premières 24 heures l'*Urococcus Dowdeswelli* provoque très aisément l'hydratation d'une quantité d'urée égale environ à 5 grammes, et que la fermentation s'achève le quatrième jour, après avoir été marquée par un début rapide, presque soudain, fait assez rarement observé chez les ferments de la carbamide de moyenne activité ;

Que les fermentations par l'*Urococcus Van Tieghemi* débutent lentement, et réclament une douzaine d'heures de plus pour se compléter.

Mais on ne saurait baser une différenciation nette entre ces deux espèces sur ces caractères que je considère, dans le cas actuel, comme insuffisamment tranchés; nous devons donc rechercher quelques autres écarts dans les facultés physiologiques de ces deux microorganismes. Nous trouvons sans peine que, si l'*Urococcus Dowdeswelli* hydrate un peu plus rapidement 20 grammes d'urée que l'*Urococcus Van Tieghemi*, son pouvoir fermentaire est néanmoins très notablement inférieur à celui de ce dernier.

En effet, l'*Urococcus Van Tieghemi*, peut déterminer sans difficulté la fermentation de 40 grammes d'urée dissous dans un litre de bouillon, tandis que l'*Urococcus* λ peut à peine hydrater 30 grammes de cette substance ; une fois, il est vrai, je l'ai vu en détruire 37 grammes, mais, exceptionnellement aussi, j'ai enregistré un cas où l'urocoque de Van Tieghem en a détruit 57 grammes.

Je rapporte ci-après les expériences qui établissent les limites extrêmes du pouvoir fermentaire de l'*Urococcus Dowdeswelli*, semé dans des urines artificielles contenues dans des vases hermétiquement clos.

Urine artificielle chargée de 50 *gr. d'urée par* 1,000 *centim. cubes*

	Urée disparue par litre :			
	I	II	III	IV
Après 5 jours	»	12 gr 3	10 gr 0	11 gr 4
» 10 »	23 gr 2	24 9	23 5	22 8
» 15 »	23 2	37 5	25 0	24 2

La simple addition d'un excès de 30 grammes d'urée

pure par litre à l'urine artificielle à 2 p. 100 détermine d'abord un retard considérable dans la marche de la fermentation, ensuite un ralentissement manifeste dans cet acte physiologique.

Si les urines artificielles sont chargées de 100 grammes de carbamide par litre, les résultats obtenus diffèrent très peu de ceux qui précèdent. Dans les expériences II et III, le poids de l'urée détruite s'élève jusqu'à 31 grammes.

Urine artificielle chargée de 100 *grammes d'urée par litre*

	Urée disparue par litre :			
	I	II	III	IV
Après 1 jour	2 gr 5	»	»	»
» 2 jours	5 0	»	»	»
» 3 »	»	»	»	»
» 4 »	13 2	»	»	10 6
» 5 »	»	»	»	»
» 6 »	20 3	»	»	»
» 7 »	»	»	25 gr 3	»
» 8 »	24 1	»	»	»
» 9 »	»	»	»	25 4
» 10 »	»	»	»	»
» 11 »	24 1	»	»	»
» 12 »	»	»	»	28 4
» 13 »	»	»	»	»
» 14 »	24 0	»	»	28 1
» 15 »	»	31 gr 5	30 9	»

En résumé, la rapidité avec laquelle l'*Urococcus Dowdeswelli* hydrate l'urée correspond à une destruction de 5 grammes de cette substance par jour, soit environ 0 gr. 2 par heure, et sa capacité fermentaire équivaut à la destruction de 30 grammes de carbamide dissous dans 1 litre de bouillon peptonisé à 2 p. 100.

Morphologie de l'Urococcus Dowdeswelli. — Ce ferment figuré est formé de cellules ovales parfaitement arrondies aux extrémités, immobiles, de 1 à 1,2 μ de large, sur 2 et 3 μ de longueur. Ces cellules sont rarement associées en chaînes d'articles, elles se multiplient par division en s'étranglant transversalement ; ce phénomène de partition est assez rapide pour pouvoir être aisément suivi en chambre humide sous le microscope. Ce micrococcus ne

se reproduit jamais par bourgeonnement ; on trouve, il est vrai, quelquefois dans les cultures des cellules accouplées d'inégale grosseur : ce fait est dû à un cloisonnement anormal qui s'est produit au voisinage d'une extrémité des coccus primitifs. On observe également dans les vieilles cultures des cellules irrégulières, larges de 2, 3 et même 4 μ, sous l'aspect de massues ou de bâtonnets bosselés plus ou moins tordus et coudés ; ce sont là des formes involutives qui peuvent s'observer chez les bactéries, quand elles souffrent dans leur nutrition, ou quand le milieu est plus ou moins intoxiqué par les excrétions résultant de leur activité physiologique. Il se peut également que ce polymorphisme ait une autre origine, qu'il soit dû à des transformations dans les manières d'être du même organisme ; en tout cas, il suffit d'être averti de la possibilité de ces déformations cellulaires pour que l'observateur ne s'en laisse pas imposer par elles.

Semé dans les urines normales stérilisées à 110°, l'*Urococcus Dowdeswelli* s'y développe dès le lendemain, en produisant un trouble intense suivi d'un abondant dépôt dû, surtout, aux sels ammoniacaux des acides que renferment les urines. Un trouble incomparablement moins intense s'observe avec les urines artificielles ; quelques jours plus tard, le liquide fermenté ou encore en voie de fermentation récupère sa limpidité première, et l'odeur qu'il dégage rappelle uniquement celle qu'exhale le carbonate d'ammonium.

Si l'on introduit l'*Urococcus Dowdeswelli* dans du bouillon de peptone ordinaire, un louche léger apparaît au bout de 24 heures dans le liquide ; les jours suivants, ce trouble n'augmente pas, au contraire, il diminue rapidement, tandis qu'il se forme au fond du vase un dépôt *jaune* constitué par des cellules ovales. Après une quinzaine de jours de culture à 30°, le bouillon clair décanté mis en contact avec de l'urée se montre capable d'hydrater 10 à 12 grammes de ce corps en moins d'une heure, à une température voisine de 50° ; si on opère avec une culture vieille de 5 à 6 semaines, la présence de l'urase ne peut être décelée dans le bouillon.

Le micrococcus dont nous parlons ne se développe que

faiblement dans le liquide de Cohn ; mais il suffit d'additionner ce dernier d'une très faible quantité de gélatine peptonisée, pour l'y voir prospérer, s'y multiplier facilement, et si la liqueur de Cohn renferme peu d'urée, la fermentation marche presque avec la rapidité qu'on observe dans les urines peptonisées à 2 p. 100.

Liquide de Cohn à 20 grammes d'urée par litre, légèrement nutritifié

	Urée disparue par litre : I	II	III
Après 1 jour	»	»	2 gr 9
» 2 jours	7 gr 8	7 gr 9	8 7
» 3 »	12 9	11 4	12 3
» 4 »	16 0	17 1	15 9
» 5 »	20 0	20 0	18 5

L'*Urococcus Dowdeswelli* croît très bien dans la gélatine simplement peptonisée, où il donne des colonies d'abord blanches qui jaunissent en peu de temps. Ces colonies sont sphériques ou discoïdales, et leur surface extérieure se mamelonne en vieillissant. Si on sème l'*Urococcus* λ à la surface de la gélatine, il y fournit des gazons et des boutons jaunes saillants ; inoculé par piqûre au fil de platine dans le même milieu, il fournit des beaux clous à tête convexe. La gélatine peptonisée n'est jamais liquéfiée.

L'agar, le lichen, la pomme de terre cuite conviennent de même très bien à la culture de l'*Urococcus Dowdeswelli* qui prend souvent sur ces terrains un développement considérable, surtout si on les maintient à un degré de température voisin de 30°.

Quand les gelées ensemencées par l'*Urococcus* λ renferment de l'urée, les cristaux satellites en haltères se montrent déjà au bout de 24 à 48 heures, et si le terrain choisi est la gélatine, elle se ramollit lentement, devient sirupeuse, et la culture s'effondre avec les productions cristallines qui l'entourent.

Action de la chaleur sur l'Urococcus Dowdeswelli. — A 35°, la fermentation déterminée par ce microorganisme s'effectue encore avec rapidité ; à 40°, souvent elle ne débute même pas, ou si une hydratation légère se manifeste,

elle se suspend bientôt dans les milieux chargés de 2 p. 100 d'urée. De même que pour les bactéries qui ne fournissent pas de spores réfringentes, la température fatale à la vie des cellules de l'*Urobacillus* λ est relativement basse;

Températures maintenues de 2 heures	Nombre d'ampoules chauffées	Nombre de fermentations déterminées par les ampoules
60°	4	néant
53°	4	néant
49°	4	néant
45°	8	6
43°	4	4

l'expérience démontre qu'elle est comprise entre 45 et 50°.

La température de 45° est critique pour l'espèce considérée; cependant, dans quelques expériences de contrôle, j'ai vu quelquefois le contenu des ampoules chauffé à 46° déterminer la fermentation complète de l'urine. Il ne paraît pas y avoir ici atténuation de la fonction physiologique par la chaleur, car on remarque : ou que l'espèce est tuée, et l'on attend vainement la moindre hydratation de la carbamide, ou qu'elle est restée vivante, et dans ce cas la fermentation marche avec la rapidité qui caractérise le ferment figuré.

Action des antiseptiques sur l'Urococcus Dowdeswelli. — C'est encore le biiodure de mercure qui se montre ici la substance infertilisante la plus puissante; on n'observe pas de fermentation dans les urines artificielles qui en ont reçu 1 : 100,000 de leurs poids. A 1 : 200,000, l'hydratation débute et peut se compléter dans les urines artificielles.

Action du biiodure de mercure sur l'Urococcus Dowdeswelli

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
0gr 050	1 : 20,000	»	»	»	néant
0 050	1 : 20,000	»	»	»	néant
0 033	1 : 30,000	»	»	»	néant
0 033	1 : 30,000	»	»	»	néant
0 025	1 : 40,000	»	»	»	néant
0 025	1 : 40,000	»	»	»	néant
0 020	1 : 50,000	»	»	»	néant
0 020	1 : 50,000	»	»	»	néant

Action du biiodure de mercure sur l'Urococcus Dowdeswelli (suite)

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
0 020	1 : 50,000	»	»	»	néant
0 016	1 : 60,000	»	»	»	néant
0 013	1 : 75,000	»	»	»	néant
0 013	1 : 75,000	»	»	»	néant
0 010	1 : 100,000	»	»	»	néant
0 010	1 : 100,000	»	»	»	néant
0 005	1 : 200,000	2 gr 6	»	16 gr 4	néant
0 005	1 : 200,000	»	»	»	19 gr 5

Avec le sublimé, sauf dans un cas où la fermentation a été notée dans une urine ayant reçu 1 : 40,000 de ce corps, les fermentations ne deviennent notables que lorsque la dose a été portée à 1 : 75,000. A 1 : 100,000 elles débutent toujours et peuvent se compléter.

Action du bichlorure de mercure sur l'Urococcus Dowdeswelli

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de : 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
0 gr 050	1 : 20,000	»	»	»	néant
0 033	1 : 30,000	»	»	»	néant
0 033	1 : 30,000	»	»	»	néant
0 033	1 : 30,000	»	»	»	néant
0 025	1 : 40,000	»	»	»	néant
0 025	1 : 40,000	»	»	»	16 gr 1
0 020	1 : 50,000	»	»	»	néant
0 020	1 : 50,000	»	»	»	néant
0 016	1 : 60,000	»	»	»	néant
0 013	1 : 75,000	»	»	»	néant
0 013	1 : 75,000	»	»	»	2 gr 0
0 013	1 : 75,000	»	»	»	néant
0 010	1 : 100.000	»	7 gr 8	»	18 gr 6
0 010	1 : 100,000	»	2 8	14 gr 3	»
0 005	1 : 200,000	3 gr 5	11 7	20 0	»

Le sulfate de cuivre a une action néfaste sur ce ferment figuré qui végète péniblement et n'hydrate qu'une faible quantité d'urée dans les milieux qui en renferment 1 : 3,000 et même 1 : 4,000. Le sulfate cuprique suspend toute végétation de ce microorganisme dans les urines qui en ont reçu la 1 : 1,500 partie de leur poids.

Action du sulfate de cuivre sur l'Urobacillus Dowdeswelli

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de:			
		3 jours	6 jours	9 jours	un mois
1 gr 000	1 : 1,000	»	»	»	nulle
1 000	1 : 1,000	»	»	»	néant
0 666	1 : 1,500	»	»	»	néant
0 666	1 : 1,500	»	»	»	néant
0 500	1 : 2,000	»	»	»	3 gr 5
0 500	1 : 2,000	»	»	»	néant
0 500	1 : 2,000	»	»	»	3 gr 9
0 500	1 : 2,000	»	»	»	8 5
0 500	1 : 2,000	»	»	»	6 4
0 400	1 : 2,500	»	2 gr 5	»	7 7
0 333	1 : 3,000	3 gr 9	»	»	10 1
0 333	1 : 3,000	»	5 7	»	9 6
0 333	1 : 3,000	»	4 3	»	11 0
0 250	1 : 4,000	»	6 4	»	9 3
0 250	1 : 4,000	»	»	8 gr 9	13 2

Action de l'iode sur l'Urococcus Dowdeswelli

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de:			
		3 jours	6 jours	9 jours	un mois
2 gr 000	1 : 500	»	»	»	néant
2 000	1 : 500	»	»	»	néant
1 666	1 : 600	»	»	»	néant
1 250	1 : 800	»	»	»	néant
1 250	1 : 800	»	»	»	néant
1 000	1 : 1.000	»	»	»	néant
1 000	1 : 1,000	»	»	»	néant
1 000	1 : 1,000	»	»	»	néant
1 000	1 : 1,000	»	»	»	néant
0 666	1 : 1,500	2 gr 5	»	»	8 gr 3
0 666	1 : 1,500	»	»	9 gr 6	»
0 666	1 : 1,500	»	»	»	néant
0 500	1 : 2,000	»	»	12 5	18 gr 3
0 500	1 : 2,000	3 6	»	16 4	»
0 333	1 : 3,000	8 2	17 gr 4	»	19 1

L'iode en solution iodurée se montre moins antiseptique que le cuivre à l'égard de l'espèce que nous étudions.

Action de l'acide borique sur l'Urococcus Dowdeswelli

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de: 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
3gr 333	1 : 300	»	»	»	néant
2 500	1 : 400	»	»	»	néant
2 500	1 : 400	»	»	»	4gr 3
2 000	1 : 500	3gr 2	6gr 0	»	9 1
2 000	1 : 500	»	2 9	»	4 4
2 000	1 : 500	»	»	»	5 6
1 666	1 : 600	»	»	6gr 4	13 3
1 666	1 : 600	»	5 4	»	8 8
1 333	1 : 750	»	10 3	»	»
1 250	1 : 800	4 5	»	»	10 9
1 000	1 : 1,000	6 4	»	»	16 5
1 000	1 : 1,000	»	13 2	»	15 8
1 000	1 : 1,000	7 8	»	»	17 6
0 666	1 : 1,500	»	12 8	»	16 9

Chose assez curieuse et assez rarement observée, l'action de l'acide borique s'est montrée en général moins efficace pour arrêter les fermentations déterminées par l'*Urobacillus Dowdeswelli* que pour les autres urocoques.

Action de l'acide phénique sur l'Urococcus Dowdeswelli

Dose par litre	Titre des solutions	Urée disparue par litre au bout de: 3 jours	6 jours	9 jours	un mois
20gr 000	1 : 50	»	»	»	néant
10 000	1 : 100	»	»	»	néant
10 000	1 : 100	»	»	»	néant
10 000	1 : 100	»	»	»	néant
10 000	1 : 100	»	»	»	néant
6 666	1 : 150	»	»	5gr 4	8gr 6
5 000	1 : 200	»	»	»	9 0
5 000	1 : 200	»	»	8 9	11 6
5 000	1 : 200	7gr 1	»	»	10 3
5 000	1 : 200	»	»	»	6 4
3 333	1 : 300	12 6	»	»	»
3 333	1 : 300	»	13 2	»	18 1
3 333	1 : 300	»	13 6	»	»
2 500	1 : 400	8 7	»	»	15 9
2 000	1 : 500	9 3	»	17 5	»

A une dose inférieure à 1 : 400, l'acide phénique se montre incapable de modifier la marche de la fermentation par l'*Urococcus Dowdeswelli*.

A 1 : 150, il ne peut s'opposer à un commencement d'hydratation.

Les résultats qui précèdent se trouvent condensés dans le tableau suivant :

Doses minima de quelques antiseptiques capables de s'opposer efficacement à la fermentation d'un litre d'urine artificielle ensemencée par l'Urococcus Dowdeswelli.

Substances	Poids par litre	Titre des solutions
Biiodure de mercure . . .	0 gr 010	1 : 100,000
Bichlorure de mercure . .	0 016	1 : 60,000
Sulfate de cuivre	0 666	1 : 1,500
Iode	1 000	1 : 1,000
Acide borique	3 333	1 : 300
Acide phénique	10 000	1 : 100

Les microcoques chromogènes ferments de l'urée sont très fréquemment trouvés dans la nature ; à côté de l'espèce à cellules ovalaires qui vient d'être décrite, j'en ai rencontré de jaunes ou presque rouges, dont le pouvoir hydratant vis-à-vis de l'urée est très manifeste. Je ne citerai ici que deux d'entre eux assez faciles à diagnostiquer : les Urococcus δ et ε, qui ont été signalés dans l'*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'an 1889 (pages 504 et suivantes).

Urococcus δ

Cet organisme vit ordinairement dans les eaux ; on le rencontre également souvent parmi les poussières de l'air. Son pouvoir fermentaire est très faible : les urines normales et artificielles soumises à son action perdent lentement leur urée, il faut environ de 20 à 30 jours pour que l'hydratation de 20 grammes de carbamide soit complète.

Au microscope, ce coccus se montre formé de cellules sphériques de 1,5 μ de diamètre environ, le plus habituel-

lement groupées en plaques ou minces pellicules constituées par de nombreux globules agrégés.

Cette espèce croît très bien dans le bouillon simplement peptonisé, où elle donne un dépôt abondant jaune-ocre très clair. Ensemencée sur la gélatine ordinaire, elle y forme des taches épaisses, bien nourries, d'une couleur rappelant le sulfure de cadmium. Dans les cultures souterraines l'*Urococcus* δ se groupe en sphérules irrégulièrement disposées. Au bout de quelques mois, il se produit au-dessous de la tache jaune développée sur de la gélatine simplement peptonisée une ampoule de liquide visqueux qui grossit avec une lenteur extrême, et dont la grosseur devient stationnaire au bout de 2 à 3 mois.

L'*Urococcus* δ croît moins bien dans les urines ; il n'y donne que de faibles dépôts blancs ou très légèrement colorés en jaune. Dans les gélatines chargées d'urée, on voit le même microorganisme former des colonies, des taches, des traînées très maigres et presque blanches. Chauffée à 55°, cette espèce est irrévocablement tuée.

Urococcus ε

Tandis que l'organisme précédent se présente à l'observateur avec une nuance jaune-clair de sulfure de cadmium délayé dans du blanc de plomb, l'*Urococcus* ε possède une couleur foncée très comparable à celle du chromate de plomb obtenue en précipitant une solution de sel plombique par un bichromate alcalin.

A l'examen microscopique, cet urocoque apparaît sous la forme de petites cellules globulaires de 0,8 à 1,0 μ de largeur, ordinairement groupées en tas de 5, 10 et même d'un plus grand nombre d'individus; beaucoup de ces globules sont isolés, rarement ils adoptent l'aspect des diplocoques.

L'*Urococcus* ε se développe très aisément et abondamment dans le bouillon de peptone, qu'il trouble d'abord fortement, pour se précipiter ensuite au fond du vase et donner un dépôt jaune doré dense et volumineux.

Porté dans l'urine humaine stérilisée par la chaleur, il y produit une fermentation lente, assez régulière, qui se complète habituellement au bout d'une dizaine de jours.

L'urine artificielle chargée de 20 grammes d'urée par litre est moins favorable à la végétation botanique de cet urocoque, nonobstant sa multiplication pénible dans le bouillon de peptone carbamidé, la fermentation de 20 grammes d'urée est presque totale au bout de 2 semaines.

Voici trois exemples de ces hydratations qui marchent avec une grande régularité :

Urine artificielle chargée de 20 *grammes d'urée par litre*

	Urée disparue par litre après		
	I	II	III
Après 1 jour. . . .	2gr 1	1gr 8	»
» 2 jours . . .	3 6	»	»
» 3 »	4 3	3 9	»
» 4 »	5 7	»	6gr 1
» 5 »	»	6 5	»
» 6 »	10 1	»	»
» 7 »	11 1	9 7	»
» 8 »	»	»	10 9
» 9 »	14 3	»	»
» 10 » . . .	16 1	14 4	»
» 11 »	17 4	»	16 8
» 12 »	»	16 7	»
» 13 »	19 2	»	»
» 14 »	»	18 9	19 5

Ensemencé sur la gélatine peptonisée l'*Urococcus* ε donne des taches et des stries saillantes d'un très beau jaune foncé qui s'étendent irrégulièrement et présentent un contour dentelé. Dans les piqûres, la partie souterraine est formée par un conglomérat de sphérules également d'un très beau jaune. Cette espèce ne liquéfie pas la gélatine, quelle que soit la durée de l'attente.

Porté sur la gélose nutritive ordinaire, maintenue à 30°, cet urocoque ne se développe pour ainsi dire pas, tandis qu'il forme sur la gélose chargée d'urée exposée au même degré de chaleur, des taches *blanches*, qui peuvent acquérir une certaine étendue. Semée dans la

gélatine fabriquée avec de l'urine normale, cette espèce se multiplie assez aisément, en produisant autour d'elle le brouillard habituel de cristaux que déterminent les ferments ammoniacaux actifs ou moyennement actifs. Le ramollissement lent et la liquéfaction générale de *substratum* ne s'observent pas dans ce cas.

Je dois enfin ajouter que ce microcoque ne résiste pas à une température de 50° soutenue pendant 2 heures, et qu'il perd toujours sa faculté chromogène dans les milieux où il peut déterminer la formation d'une quantité notable de carbonate d'ammonium.

Il me resterait à signaler l'existence d'un micrococcus de couleur jaunâtre, ferment lent de l'urée, capable de liquéfier promptement la gélatine ; mais outre que cette description est d'un médiocre intérêt, elle risquerait de faire double emploi avec celle qu'a donnée le Dr Flügge d'une espèce appelée par lui *Micrococcus ureæ liquefaciens*.

Urosarcina Hansenii, *sive* Urosarcina α

Les sarcines sont des végétations microscopiques très répandues dans l'air et dans les eaux ; les unes sont incolores ou grisâtres, les autres rouges, jaunes, brunes, etc. ; on ne doit pas les confondre avec les microcoques dont les cellules sont associées 4 à 4 sur un même plan. La véritable sarcine dérive d'une cellule, qui se divise suivant trois plans perpendiculaires entre eux. Ce triple cloisonnement fournit 8 cellules qui, à leur tour, en donnent 64, etc... ; la multiplication, quand rien ne vient s'y opposer, marche donc suivant les termes d'une progression géométrique dont la raison est 8 ; mais très souvent 1 ou 2 cloisonnements avortent ou sont en retard les uns sur les autres, surtout dans les milieux alcalinisés par le carbonate d'ammoniaque ; aussi trouve-t-on dans les cultures des coccus irrégulièrement ou bizarrement assemblés, et des accouplements de cellules d'aspect très varié.

Dans le cours de mes recherches sur les ferments de la

carbamide, j'ai trouvé un schizomycète de la famille des sarcines, qui possède la faculté d'hydrater assez promptement l'urée. Il n'a aucun trait de ressemblance avec la *Sarcina ventriculi*, qui, d'après Leube, pourrait également produire cette hydratation, ni avec les sarcines jaunes, orangées vulgaires, qui, semées dans les urines, ne peuvent y déterminer la formation de carbonate d'ammoniaque au dépend de l'amide carbonique.

Je donne au ferment figuré que je vais décrire et qui n'est, sans doute, qu'un représentant des urosarcines pouvant faire fermenter l'urée, le nom du savant mycologiste Emil Chr. Hansen, directeur du Laboratoire de Carlsberg, à Copenhague, auquel ses beaux travaux, relatifs à la fermentation alcoolique par les levures, ont donné une célébrité justement méritée.

Habitat de l'Urosarcina Hansenii. — Je viens de dire que cette espèce se trouvait très répandue dans l'air atmosphérique et les eaux; j'ajouterai qu'on la rencontre aussi dans le sol, surtout dans les terres très chargées de matières organiques, récemment fumées, par exemple, ou irriguées avec de l'eau d'égout; on la trouve beaucoup plus rarement dans les boues putrides, dans les enduits vaseux qui tapissent intérieurement les tuyaux destinés à canaliser les eaux ménagères; cette Urosarcine recherche de préférence les terrains où la lutte pour la vie n'est pas difficile à soutenir.

Pour se procurer assez rapidement cette espèce à l'état de pureté, on doit s'adresser aux poussières atmosphériques. On dirige à travers une colonne de sulfate de soude anhydre, stérilisé, quelques mètres cubes d'air impur comme celui qui circule dans les rues des vastes agglomérations urbaines, puis le filtre est dissous dans de l'eau purgée de germes, et, avec la solution obtenue, on fabrique une vingtaine de plaques dans lesquelles la gélatine peptonisée est remplacée par de la gélatine chargée de 20 p. 100 d'urée pure. Ces plaques doivent être modérément chargées de bactéries, de façon à pouvoir être aisément tenues en surveillance pendant 15 à 20 jours. On n'étudiera que les colonies s'entourant tardivement d'une atmosphère de cristaux. Si on recherche cette espèce dans le sol et les eaux,

on pourra avec profit et pour déblayer les terrains d'une foule d'espèces étrangères, porter les eaux et les émulsions terreuses à 50° pendant 2 heures, température qui n'altère pas la vitalité de l'*Urosarcina Hansenii*, tandis que beaucoup de micrococques zymogènes et vulgaires ne résistent pas à ce degré de chaleur.

Enfin, la marche de la fermentation et la limpidité toujours parfaite que conservent les liquides où l'*Urosarcina Hansenii* est semée, pourront aider l'expérimentateur à prononcer *de visu* un diagnostic provisoire, qu'une étude plus approfondie établira d'une façon définitive.

Fonctions physiologiques de l'Urosarcina Hansenii. — Porté dans l'urine normale, ce ferment y croît aisément sans y déterminer de trouble appréciable. Après un jour ou deux d'incubation, il commence à se multiplier lentement au fond du vase en donnant des traînées rayonnées qui grimpent le long des parois, surtout si le vase a la forme d'une poire ou des matras soufflés à fond plat. D'acide, l'urine devient neutre, puis alcaline, en général, c'est du dixième au quinzième jour que la fermentation se suspend, et, s'il reste à ce moment encore de l'urée dans la liqueur, elle persiste indéfiniment sans être attaquée. Dans les urines, même stérilisées à 110°, le poids de la carbamide hydratée ne dépasse pas ordinairement une dizaine de grammes.

Urine humaine stérilisée à 110°

	Urée disparue par litre :				
	I	II	III	IV	V
Après 3 jours	2 gr 8	»	»	3 gr 9	»
» 4 »	»	»	6 gr 3	6 9	6 gr 4
» 5 »	9 3	8 gr 2	9 5	»	»
» 6 »	»	»	11 5	11 5	10 8
» 7 »	10 8	10 1	»	»	»
» 8 »	12 2	11 4	»	»	12 7
» 10 »	12 2	11 4	11 5	11 4	12 6

L'*Urosarcina Hansenii* introduite dans les urines artificielles contenant 20 p. 1.000 de carbamide peut pousser la fermentation beaucoup plus loin; les cas ne sont pas rares où les 20 grammes d'urée sont complètement hydra-

tés; il faut le dire aussi, les cas sont assez fréquents où la fermentation s'arrête en laissant dans le liquide 5, 6 et même 8 grammes d'urée indécomposés.

Urine artificielle chargée de 20 grammes d'urée par litre

	Urée disparue par litre :					
	I	II	III	IV	V	VI
Après 3 jours	3gr 3	2gr 3	»	2gr 0	»	»
» 4 »	»	»	3gr 9	4 3	»	4gr 0
» 5 »	8 6	7 5	6 4	5 9	6gr 8	»
» 6 »	11 8	10 4	8 6	7 8	»	7 9
» 7 »	»	»	10 7	9 9	11 5	»
» 8 »	16 1	16 4	12 1	12 2	»	11 6
» 9 »	17 5	17 9	»	14 6	»	»
» 10 »	18 9	18 6	12 1	17 1	15 2	»
» 11 »	»	»	»	19 2	»	16 5
» 12 »	19 8	20 0	12 0	20 0	15 3	16 5

La marche de la fermentation déterminée par ce micro-organisme est très différente en apparence de celle qu'offrent les espèces précédentes; en effet, de même que les mucédinées urophages, l'*Urosarcina* α commence par se développer au point de vue botanique, en une assez grande quantité de cellules; puis, ce développement effectué, la fermentation marche avec rapidité. En étudiant de près et jour par jour le processus de l'hydratation, on la voit d'abord débuter faiblement, s'accélérer, devenir d'une rapidité maximum 7 à 8 jours après l'ensemencement, puis se ralentir et enfin s'arrêter, quelquefois, avant que les 20 grammes d'urée dissous par litre aient été complètement décomposés; en tout cas, la destruction des derniers grammes d'urée réclame 2 à 3 jours.

Si on augmente la quantité de carbamide dissoute dans les bouillons, les fermentations deviennent très irrégulières, elles peuvent commencer, se poursuivre pendant quelques jours et souvent cesser brusquement avant que la quantité d'urée décomposée ait atteint 10 grammes.

Nous avons vu antérieurement que le rapport entre le poids des ferments figurés développés dans les urines et celui de l'urée hydratée était très faible, qu'il pouvait descendre à 1 : 4,000 avec l'*Urobacillus Duclauxii*, à 1 : 1,000

avec l'*Urobacillus Pasteurii* et l'*Urococcus Van Tieghemi*.

Si on cherche à établir ce même rapport entre le poids des cellules de l'*Urosarcina Hansenii* et de l'urée que cette espèce a hydratée, on obtient des fractions plus élevées, ainsi qu'il ressort des chiffres donnés par trois expériences effectuées avec des urines artificielles chargées de 1 p.100 de carbamide.

Dans les expériences considérées, les fermentations ont été arrêtées à des dates diversement éloignées du jour de l'ensemencement et à des instants où la quantité d'urée détruite était inégale, cela, afin d'apprécier s'il existait une proportionnalité appréciable entre le poids de l'urée décomposée et le poids de cellules engendrées par le ferment figuré.

Voici les résultats fournis par ces trois expériences (1) :

Après	4	jours :	urée disparue =	3 gr. 2. —	Rapport =	1 :	230
»	5	»	» »	5 gr. 7. —	»	1 :	335
»	6	»	» »	7 gr. 9. —	»	1 :	427.

Au fur et à mesure que la fermentation s'avance, le rapport entre l'urée décomposée et le poids de la *Urosarcina* α

---

(1) Première expérience. — Urine artificielle ayant perdu 3 gr. 2 d'urée au bout de 4 jours.

F + 0 gr. 745 = tare : 1 gramme.

Après filtration et dessiccation de la sarcine.

F + 0 gr. 731 = tare : 1 gramme.

Différence = 0 gr. 014 ; rapport = $\frac{3,200}{14}$ = 229.

Deuxième expérience. — Urine artificielle ayant perdu 5 gr. 7 d'urée au bout de 5 jours.

F + 0 gr. 755 = tare : 1 gramme.

Après filtration et dessiccation de la sarcine.

F + 0 gr. 732 = tare : 1 gramme.

Différence = 0 gr. 017 ; rapport $\frac{5,700}{17}$ = 335.

Troisième expérience. — Urine artificielle ayant perdu 7 gr. 9 d'urée au bout de 6 jours.

F + 0 gr. 785 = tare : 1 gramme.

Après filtration et dessiccation de la sarcine.

F + 0 gr. 766,5 = tare : 1 gramme.

Différence = 18,5 ; rapport = $\frac{7,900}{18,5}$ = 427.

formée diminue, ce qui établit effectivement qu'il n'existe pas de proportionnalité entre l'acte végétatif du microorganisme et la marche de l'acte fermentaire. Le même fait s'observe dans la fermentation alcoolique, ce qui laisse l'espoir d'établir que le mécanisme de la transformation du sucre en alcool par les levures est dû, également, à l'action d'une diastase qui se produirait au moment où les cellules de levures, cessant de se multiplier avec rapidité, vivent en élaborant l'alcool par un mode d'action resté mystérieux, que M. Berthelot attribue à une diastase, tandis que M. Pasteur soutient l'opinion contraire. Il semble, en effet, probable que les produits sécrétés par les levures pendant leur vie adulte ne sont pas étrangers à la décomposition du sucre en acide carbonique et alcool ; cependant il reste aux partisans de cette théorie à produire des faits établissant l'existence de ce ferment soluble. Les expériences sur l'urase nous démontreront, tout à l'heure, que l'isolement d'une diastase est souvent entouré de très grandes difficultés, et qu'en cette matière les expériences négatives n'ont souvent pas d'autre portée que de démontrer la difficulté et la délicatesse du problème à résoudre.

Quoi qu'il en soit, la théorie de la fermentation alcoolique, qui lie la production de l'alcool à la multiplication pure et simple des cellules des levures, n'éclaire en rien le processus de la décomposition du glucose ; ce processus, pour être connu et compris, en un mot pour prendre place parmi les vérités démontrées, doit être évidemment accompagné d'expériences nous faisant assister aux phénomènes intimes qui se passent à l'instant où la cellule de levure, digérant le glucose, l'excrète en acide carbonique et alcool. Jusqu'alors, il faut avouer que le voile qui couvre le mécanisme de la fermentation alcoolique reste encore à soulever.

Il est probable que les Urobacilles déjà étudiés, de même que les Mucédinées et l'*Urosarcina Hansenii*, fournissent tout d'abord une végétation relativement abondante, avant d'adopter le mode de vie qui les transforme en cellules fortement zymogènes; mais il m'a été difficile d'établir ce fait avec les bactéries qui produisent des poids infinitésimaux de cellules, et qui rendent, par conséquent, inappré-

ciables aux balances les plus sensibles les différences qu'il eût été intéressant de constater.

Morphologie de l'Urobacillus Hansenii. — Cette espèce examinée au microscope se présente sous la forme de cellules uniques, ou de cellules groupées 2 à 2, 4 à 4, 8 à 8, etc., suivant les phases de division où on les observe. Le triple cloisonnement qui caractérise la multiplication des sarcines s'effectue rarement à la fois, dans les trois plans réciproquement perpendiculaires l'un à l'autre. La division d'une cellule en 8 individus associés sous la forme cubique est assez rarement observée, et surtout difficile à suivre sur le porte-objet du microscope. Le plus souvent, une ou deux divisions, suivant les plans théoriques, avortent ou sont retardées, et alors cette espèce acquiert des formes singulières qui la font apparaître sous l'aspect de bâtonnets accolés les uns aux autres, de bâtonnets associés avec deux cellules accouplées, etc. La grosseur des cellules isolées est très variable, elle oscille de 1 à 3 μ dans toutes les dimensions ; les associations 4 à 4 ou 8 à 8 forment des carrés et des cubes dont les côtés et les arêtes peuvent atteindre 4 et même 5 μ.

L'*Urosarcina Hansenii* introduite dans le bouillon de peptone commence dès le lendemain à se développer visiblement; aucun trouble appréciable n'apparaît jamais dans la liqueur; un dépôt d'aspect rugueux, légèrement adhérent au verre, se forme les jours suivants ; on le voit rayonner du fond du vase sur les parois latérales contre lesquelles il grimpe aisément ; ce dépôt manifestement jaune dans les bouillons simplement peptonisés constitue un excellent caractère macroscopique.

Dans les urines animales ou artificielles, le carbonate d'ammoniaque n'est jamais produit, rapidement, en assez grande abondance, pour provoquer le trouble bien connu qui précède la précipitation des sels ammoniacaux peu solubles; aussi, les urines, de même que les bouillons, restent-elles toujours d'une grande limpidité ; les cristaux, quand il s'en produit, se déposent lentement sur les parois du vase, à côté de l'*Urosarcina* α.

Sur la gélatine peptonisée tenue à 20°, l'*Urosarcina Hansenii* accuse, dès le lendemain, son développement par

l'apparition de stries ou taches blanches qui, 48 heures plus tard sont déjà manifestement jaunâtres, et qui, après quelques semaines d'attente, grossissent beaucoup et foncent en couleur. Les organismes associés en colonies se mamelonnent avec le temps, et ne montrent jamais de pouvoir liquéfiant vis-à-vis la gélatine peptonisée.

Sur la gélatine additionnée d'urée, ce n'est guère qu'au bout d'une semaine que se manifestent les signes indubitables du développement de l'*Urosarcina* α. Dans ces sortes de milieux, elle fournit toujours une végétation pauvre et languissante, qu'on voit ultérieurement s'entourer d'une atmosphère de cristaux en haltères.

Sur la gélose peptonisée laissée à l'étuve à 30°, les cultures de l'*Urosarcina Hansenii* sont très belles et très florissantes, elles finissent par communiquer leur couleur jaune à la gelée. La pomme de terre cuite convient de même à la culture de ce microorganisme qui refuse obstinément de croître dans les milieux purement minéralisés.

Action de la chaleur et des antiseptiques sur l'Urosarcina Hansenii. — Le développement de ce ferment de l'urée est très faible au-delà de 35° ; à 40° il cesse d'être possible dans les bouillons, les urines, sur la gélose et la pomme de terre. Cependant cette bactériacée résiste mieux à l'action de la chaleur que les urocoques déjà étudiés. Chauffée pendant 2 heures à 60°, elle peut parfois se rajeunir, tandis que les *Urococcus Van Tieghemi* et *Dowdeswelli* sont tués dans des conditions identiques à 46°. On peut donc isoler facilement avec le secours de la chaleur l'*Urosarcina* α des deux urocoques désignés.

Température maintenue 2 heures	Nombre d'ampoules chauffées	Cas de fermentations observés
70°	4	0
65°	4	0
60°	4	2
57°	8	7
55°	4	4
50°	4	4
47°	4	4
45°	4	4

Des nombreux essais pratiqués avec l'*Urosarcina Han-*

senii, il résulte que ce ferment figuré est un peu moins sensible à l'action des antiseptiques que les urocoques précédents ; cette Urosarcine croît encore très bien dans les milieux contenant 1 : 70,000 de sublimé ou de biiodure de mercure, dans ceux qui ont reçu 1 : 2,000 de sulfate de cuivre et 1 : 1,500 d'iode, et enfin dans ceux qui sont chargés de 1 : 500 d'acide borique et 1 : 200 d'acide phénique.

Doses minima de quelques antiseptiques capables de s'opposer efficacement à la fermentation d'un litre d'urine artificielle ensemencée par la Sarcina Hansenii.

Substances	Poids par litre	Titre des solutions
Sublimé corrosif.	0 gr 025	1 : 40,000
Biiodure	0 025	1 : 40.000
Sulfate de cuivre.	0 666	1 : 1,500
Iode	1 250	1 : 800
Acide borique	2 050	1 : 400
Acide phénique	10 000	1 : 100

C'est par cette espèce que je termine la description particulière des ferments de la carbamide. En consultant mes registres de laboratoire, j'y trouve signalées une soixantaine, environ, de bactéries présentant à des degrés divers la faculté d'hydrater l'urée ; les unes ont été rencontrées une seule fois, les autres se montrent très fréquemment répandues autour de nous ; les unes, encore, sont surtout remarquables par leurs pigments colorés : jaune, rouge, rose et orangé qu'elles produisent; les autres sont blanches et difficiles à distinguer de la foule des bacilles et des micrococques communs. Mais ce que je pourrais dire sur l'extrême variété des ferments ammoniacaux n'ajouterait pas un nouvel intérêt au fait principal que je m'applique depuis longtemps à démontrer ; à savoir : que dans la nature les microorganismes qui décomposent l'urée appartiennent aux diverses tribus des bactéries ; que la fermentation ammoniacale n'a pas pour agent un seul microbe spécifique, comme on l'avait admis il y a une vingtaine d'années ; que ceux qui la déterminent sont fort nombreux, et possèdent des pouvoirs fermentaires d'une énergie très variable.

La statistique va nous montrer que les espèces urophages sont assez fréquentes pour déterminer en tout lieu la destruction de l'urée sécrétée par les espèces animales ou résultant de la décomposition des substances albuminoïdes, et transmettre les éléments de cette décomposition aux agents de la nitrification auxquels est dévolu le rôle de présenter aux plantes l'azote sous une forme aisément assimilable.

Les êtres infiniment petits que nous venons d'étudier ont donc dans la nature un rôle des plus utiles et des plus importants ; puisqu'ils parachèvent la destruction des matières mortes et de quelques produits résiduaires de la vie animale, en mettant en liberté l'azote et le carbone combinés entre eux dans la mollécule d'un corps stable et infécondant, même pour les agents organisés qui ont la propriété de le détruire. Les ferments ammoniacaux sont donc les représentants de tout un groupe de microbes, brassant sans cesse l'azote et le carbone ; et à ce titre ils sont les agents indispensables à la vie poursuivie des animaux et des plantes à la surface du globe. Exceptionnellement ils sont pathogènes, ou, plus exactement nuisibles, dans les cas, très rares d'ailleurs, où ils s'établissent dans la vessie lésée de quelques malades affaiblis pour y provoquer épiphénoménalement l'ammoniurie.

(*A suivre.*)

DE L'ACTION DU FLUORURE DE SODIUM SUR LA PRÉSURE

PAR

Ed. de FREUDENREICH

Dans le n° 20 du 14 novembre 1892 (p. 839) des *Comptes rendus* de l'Académie des sciences, MM. Arthus et Huber ont communiqué le résultat d'expériences desquelles il résulterait que le fluorure de sodium préserverait, à la dose de 1 p. 100, les matières organiques de la putréfaction ; des doses plus faibles même arrêteraient les fermentations alcoolique et lactique, tandis que les ferments solubles, invertine, tryprine, les sucs digestifs, etc., conserveraient toute leur activité en présence de cet antiseptique employé à la même dose. Leur conclusion est que le fluorure de sodium arrête les fermentations vitales, mais pas les fermentations chimiques.

Ces données m'engagèrent à employer cette substance pour examiner si, en l'absence de toute action microbienne, certaines fermentations purement chimiques ont lieu dans les fromages pendant la période de leur maturation. Pour cela j'additionnai du lait de 1 p. 100 de fluorure de sodium, et j'ajoutai, comme cela se fait, de la présure pour faire un fromage. Je fus très surpris de voir que la présure avait, à la suite de cette adjonction au lait, perdu toute son action. J'étudiai alors le phénomène de plus près. Un certain nombre de récipients reçurent chacun 50 centimètres cubes de lait, auquel du fluorure de sodium fut ajouté dans les proportions de 0,1 — 0,2 — 0,5 — 1 et 2 p. 100. On y versa ensuite, de même que dans un ballon témoin, 2 centimètrés cubes d'une solution de présure (une tablette de Hansen dissoute dans 500 centimètres cubes d'eau). Pendant toute la durée de l'expé-

rience, les ballons furent tenus à 35°, température la plus favorable à l'action de la présure. Après 8 minutes, le ballon témoin commença à se prendre ; en 10 minutes le caillé avait acquis une consistance normale. Le ballon additionné de 0,1 p. 100 de fluorure de sodium, par contre, ne commença à se prendre qu'après 10 minutes ; le caillé n'avait acquis la consistance normale qu'après 19 minutes, et le lait des autres ballons ne se cailla pas du tout, pas même après 48 heures. Le lait additionné de 0,2 p. 100 de fluorure de sodium s'altéra, mais pas les autres ballons, du moins pas macroscopiquement pendant quelques jours. Cependant les bactéries qu'ils contenaient n'étaient, sauf dans le lait chargé de 2 p. 100 de fluorure de sodium, pas tuées, car, ensemencés dans du bouillon, les laits chargés de 0,5 et 1 p. 100 de fluorure de sodium fécondèrent tous les ballons de bouillon inoculés. Les ballons ensemencés avec le lait additionné de 2 p. 100 de fluorure de sodium restèrent, au contraire, stériles.

J'en conclus que, en ce qui concerne du moins la présure, le fluorure de sodium ne jouit pas des propriétés que lui attribuent MM. Arthus et Huber. Certains ferments chimiques sont peut-être insensibles à son action ; la présure, au contraire, perd presque toute son activité en sa présence, puisque du lait additionné de 0,2 p. 100 de fluorure de sodium ne se caille plus lorsqu'on y ajoute une dose de présure suffisante pour faire cailler du lait normal en 10 minutes.

REVUES ET ANALYSES[1]

H.-W. Conn. — **De la manière d'isoler la présure de cultures bactériennes** (*Science*, nº du 4 novembre 1892, New-York).

M. Duclaux a montré, il y a plusieurs années déjà, que certaines bactéries possèdent la propriété de produire un ferment agissant sur le lait comme de la présure, c'est-à-dire le caillant sans l'acidifier. M. Duclaux a obtenu ce résultat non seulement en ensemençant ces bactéries dans le lait, mais aussi en additionnant ce dernier de cultures sur bouillon préalablement filtrées sur porcelaine, et, par conséquent, privées de microbes. Il avait ainsi prouvé que ce ferment soluble se trouve dans les liquides de culture. M. Conn a cherché à isoler chimiquement ce ferment des cultures et paraît y avoir réussi. Voici comment il procède. On cultive ces bactéries dans du lait pendant plusieurs jours, quelquefois même pendant 2 semaines. Au bout de ce temps le lait, caillé par l'action du microbe, se trouve précipité et en partie de nouveau dissous. Le liquide est filtré sur une bougie de porcelaine. Le *filtratum* est acidifié par l'acide sulfurique et additionné de sel en excès. On voit alors apparaître à la surface du liquide une écume blanche comme de la neige. On l'enlève, on la purifie, s'il le faut, par une seconde précipitation et on la sèche. Le produit est une poudre blanche qui caille le lait ; ce ferment n'est cependant pas tout à fait pur et contient, en outre de la présure, une quantité variable de trypsine. Ce ferment se conserve indéfiniment ; il est tué par la chaleur et agit le mieux à 30-35 degrés. Il caille le lait stérilisé en une demi-heure. Il ne paraît pas être absolument identique avec la présure dont il se distingue par quelques réactions chimiques. Nous pourrions aussi ajouter que la présure n'exerce qu'une action très faible sur le lait stérilisé à l'autoclave, tandis que ce ne serait pas le cas pour le ferment isolé par M. Conn. Diverses bactéries produisent ce ferment, mais en quantités variables. Jusqu'ici M. Conn n'en a étudié que 9 à 10.

E. F.

---

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal

A. Gaertner. — De l'hérédité de la tuberculose (*Zeitschrift für Hygiene et Infectionskrankheiten*, XIII, p 101).

Dans ce travail qui est une vraie monographie de la question — il compte 150 pages, — l'auteur expose le résultat des expériences qu'il a instituées pour éclaircir la question, encore si contestée, de l'hérédité maternelle et paternelle de la tuberculose. La première partie donne l'historique de cette question et constitue un précieux répertoire des nombreux travaux publiés sur cette matière. Nous ne pouvons, faute de place, suivre l'auteur dans les nombreux développements qu'il donne, et nous devons nous borner à résumer succinctement le résultat des expériences faites sur les animaux.

Dans une première série d'expériences, l'auteur infecta par la voie abdominale un grand nombre de femelles avant la gestation. De suite après leur naissance, les petits d'une même portée étaient broyés dans un mortier, et servaient à inoculer des séries de cobayes. Inutile de dire que toutes les précautions étaient prises pour qu'aucun bacille provenant des organes de la mère ne s'y mêlât. Les femelles inoculées étaient des souris blanches et des canaris, chez lesquels l'évolution de la tuberculose est moins rapide que chez d'autres espèces animales, et qui permet d'en obtenir plusieurs portées avant que la mort ne survienne. Aussitôt pondus, les œufs de canaris étaient inoculés à des cobayes. Sur 19 portées de souris, 2 se montrèrent tuberculeuses, ainsi que le prouva le résultat de l'inoculation aux cobayes. Sur 9 œufs pondus par les femelles de canaris, 2 furent trouvés tuberculeux. Il en résulte que, dans ces conditions d'expériences, les bacilles peuvent passer de la mère au fœtus, soit qu'il soit infecté dans l'ovaire même, soit après sa sortie de cet organe. Il eût été évidemment préférable d'inoculer separément les petits de chaque portée; l'auteur eût aussi désiré le faire, mais la difficulté qu'il avait à se procurer des cobayes en nombre suffisant le força d'opérer comme il a été dit plus haut.

Une seconde série d'expériences fut faite pour déterminer si, en cas de tuberculose miliaire aiguë, les petits peuvent être infectés par la voie placentaire. Les animaux employés étaient des lapines pleines, parce que leur placenta ressemble davantage à celui de l'espèce humaine que celui d'autres animaux. L'injection des cultures tuberculeuses était pratiquée dans la veine de l'oreille de 4 à 17 jours avant la naissance des petits. De cette façon, les bacilles pouvaient envahir le torrent circulatoire d'une manière analogue à ce qui se passe dans la tuberculose miliaire aiguë. De suite après leur naissance, les petits servaient à inoculer des cobayes. Sur 51 petits, 5, soit 10 p. 100, donnèrent la tuberculose aux cobayes. Il est à remarquer que des résultats positifs furent obte-

nus, même quand on avait inoculé de petites quantités de bacilles à la mère.

Dans une 3e série d'expériences, M. Gaertner chercha à créer des conditions telles qu'elles peuvent se rencontrer dans le tuberculose pulmonaire primaire. Pour cela, il inocula un certain nombre de souris directement dans la trachée. Sur 56 animaux ainsi opérés, 9 eurent des petits, 18 portées avec 74 petits, qui servirent à inoculer des cobayes. Sur 18 portées, 9 contenaient des petits tuberculeux. La naissance des petits infectés avait eu lieu de 56 à 250 jours après l'inoculation. La durée du temps qui s'était écoulé entre l'inoculation de la mère et la naissance semble donc avoir été sans grande influence.

L'auteur conclut de ces expériences que, en cas de tuberculose pulmonaire, les bacilles passent fréquemment de la mère aux petits, du moins chez la souris.

D'autres expériences enfin servirent à déterminer si le père peut transmettre le bacille tuberculeux à ses descendants.

Dans une première série d'expériences, des cobayes mâles furent inoculés dans la trachée, et leur sperme (toute la quantité éjaculée en une fois) fut inoculé à différentes époques à d'autres cobayes. Sur 32 expériences ainsi faites, le sperme se montra 5 fois capable de transmettre la tuberculose ; jamais cependant il ne contint de bacilles moins de 10 jours après l'inoculation. Les animaux inoculés avec le sperme ne moururent qu'après 4, 6, 8 et 12 mois, ce qui prouve que celui-ci ne contenait que peu de bacilles. La possibilité d'une infection de l'ovule par un spermatozoïde tuberculeux ne semble donc pas grande. En effet, si l'on admet, comme M. Gaertner, que le sperme éjaculé contienne peut-être une dizaine de bacilles, on pourrait compter chez l'homme un bacille pour 22 1/2 millions de spermatozoïdes, puisque, d'après les calculs de Lode, le sperme éjaculé contient, en moyenne, 226,257,900 spermatozoïdes. Il faudrait donc une malchance toute particulière pour que ce soit précisément un spermatozoïde tuberculeux qui vienne à fructifier l'ovule.

Dans une seconde série d'expériences, l'auteur inocula les bacilles tuberculeux dans le testicule même, et procéda ensuite comme dans la précédente série. Ici 50 p. 100 des éjaculations (8 sur 15) transmirent la tuberculose aux cobayes. Il y a donc, dans ce cas, 3 1/2 plus de chances pour la transmission de la tuberculose que dans le cas précédent ; mais, en se basant, comme plus haut, sur le nombre des spermatozoïdes, M. Gaertner conclut que la possibilité d'une fructification de l'ovule par le spermatozoïde infecté est ici aussi à peu près nulle. Ce qui paraît appuyer l'opinion de M. Gaertner est le fait que sur 45 petits procréés par des cobayes mâles ayant reçu une injection de bacilles dans les testicules, mais dont les mères étaient saines, aucun ne se montra capable, inoculé à des cobayes de suite après la naissance, de transmettre une tuberculose à ces

derniers. Par contre, sur les 45 cobayes femelles ayant servi à ces expériences, 5 devinrent tuberculeuses (tuberculose vaginale) à la suite de la cohabitation avec les mâles tuberculeux.

En résumé, l'auteur conclut que souvent la mère transmet la tuberculose aux petits (souris, canaris et lapins), mais pas le père (lapins et cobayes).

E. F.

Jean Rossi. — **Contribution à l'étude bactériologique des eaux** (Thèse, Genève, 1892).

Dans son travail, l'auteur s'attache surtout à montrer l'influence de l'alcalinisation des milieux de culture sur le nombre des bactéries décelées dans l'eau par les procédés de culture. C'est un point sur lequel M. Reinsch a déjà attiré l'attention.

De l'ensemble de ses expériences, l'auteur déduit entre autres, les conclusions suivantes :

« Pour que deux analyses soient *comparables*, il faut avoir suivi, pour les pratiquer, la même méthode, et employé des milieux dont la composition soit identique.

« Ainsi les bouillons légèrement alcalinisés donnent lieu au développement d'un plus grand nombre de germes que les mêmes bouillons neutres ensemencés dans les mêmes conditions. » (Dans une expérience, par exemple, 145 germes au lieu de 95.)

Le chiffre représentant le poids de substance alcaline à ajouter à un milieu de culture composé de 20 grammes de peptones sèches (Gehe), 5 grammes de chlorure de sodium, 1,000 grammes d'eau et 100 grammes de gélatine française (papier bleu, marque d'or) pour le rendre aussi favorable que possible à l'éclosion des germes de l'eau serait, d'après M. Rossi :

Carbonate de soude	0,06 0/0
» » potasse.	0,09 0/0
Alcalis caustiques, entre.	0,02 et 0,04.

Le choix de la substance alcalinisante n'est pas indifférent. Il les mentionne de la façon suivante par ordre de mérite : carbonate de soude, carbonate de potasse, potasse caustique, soude caustique.

M. Rossi a fait, en outre, de nombreuses expériences sur la richesse en germes des eaux du lac de Genève, du Rhône, de l'Arve et de différentes fontaines. Mentionnons que les eaux du lac contiennent, à 2 mètres de profondeur et à 500 mètres des jetées, 46 bactéries par centimètre cube, et de 180 à 532 dans le port à 10-20 centimètres de profondeur.

Enfin, l'auteur a démontré que dans le Rhône, du moins, et en

hiver, le mouvement de l'eau produit par les forces motrices du Rhône diminue le nombre des bactéries dans la proportion d'un sixième.

E. F.

Dr Rod Abel. — **Etudes bactériologiques sur l'ozène simple** (*Centralblatt für Bacteriologie*, XIII, p. 161)

On a souvent pensé que l'ozène pourrait aussi être une maladie microbienne, soit que le microbe soit la cause même de l'inflammation de la muqueuse nasale, soit que son rôle se borne à produire l'odeur fétide qui caractérise cette pénible maladie. Jusqu'ici, toutefois, les tentatives faites en vue d'isoler ce microbe, tentatives que nous résumerons plus bas, n'ont pas abouti à des résultats très concluants.

M. Abel a repris ces recherches et soumis 16 cas d'ozène simple à une étude bactériologique approfondie. Dans tous les cas, il a constaté la présence, dans les sécrétions nasales, d'un bacille à capsule ayant une certaine ressemblance avec le pneumo-bacille de Friedlaender. Il a également pu le cultiver. Sur les plaques, les colonies de la surface se présentent à l'œil nu sous forme de petites éminences à aspect visqueux et laiteux. Au microscope, elles sont de couleur grise-brune. Elles sont composées d'un bacille immobile généralement 3 fois aussi long que large. On voit cependant aussi des formes en micrococcus. La capsule n'est que rarement visible et seulement pendant la première génération. Cultivé sur gélatine, en strie, il produit en peu de jours un enduit visqueux et filant. La gélatine n'est pas liquéfiée. Sur agar tenu à l'étuve, il se forme déjà en 12-24 heures un gazon visqueux, crémeux, qui, comme sur la gélatine aussi, glisse peu à peu au fond du tube quand celui-ci est tenu droit. Sur pomme de terre on observe aussi un enduit crémeux. Le bouillon est troublé fortement et une masse visqueuse composée de bacilles se dépose aux endroits où le bouillon touche le verre. Des spores ne furent jamais observées. A l'abri de l'air ce micro-organisme se développe aussi, mais plus péniblement. Il est très résistant et se colore bien, mais pas d'après la méthode de Gram. Il est pathogène pour les souris blanches. Quand on les inocule par la voie sous-cutanée, elles sont manifestement malades déjà après 12-16 heures. Elles meurent en 36-48 heures. A l'autopsie, on constate une forte infiltration à l'endroit de l'inoculation et on retrouve le bacille en masse dans le sang et dans tous les organes. La souris des maisons, celle des champs (*Arvicola arvalis*), et la souris dite *Mus minutus* sont également sensibles à son action. Le *Mus agrarius*, au contraire, l'est beaucoup moins. L'inoculation ne détermine

chez cette dernière espèce que de la suppuration. Les rats et les cobayes sont réfractaires à l'inoculation sous-cutanée. Injecté dans le poumon ou dans la cavité abdominale, le bacille produit des processus morbidés locaux (hépatisation et pyothorax, péritonite). Les lapins, hamsters et pigeons résistent à toute inoculation. Les souris inoculées avec des croûtes d'ozène meurent comme quand on inocule le bacille en culture pure. Son action pathogène pour la souris se distingue du bacille de Friedlaender, dont les colonies en tête de clou sont aussi plus compactes et ne coulent pas le long de la gélatine quand elle est étalée en surface inclinée. Il se distingue également des autres microorganismes analogues (bacille à capsule de Pfeiffer, bacille à capsule de Passet, de Mandry, etc.).

Si l'on compare les résultats de M. Abel et ceux de ses prédécesseurs, on verra que ceux-ci ont, pour la plupart, également trouvé dans la sécrétion nasale des malade affectés d'ozène des bacilles ou diplococcus (Löwenberg, Klamann, Thost, Hajek, Marsano, Luc, Hope et d'autres encore), ressemblent beaucoup au bacille de Friedlaender. Klamann, Thost et Hajeck, après les avoir cultivés, les identifièrent avec celui-ci. Marsano qui les a également cultivés trouva des différences qui auraient facilement pu échapper aux précédents observateurs. M. Abel pense donc pouvoir admettre que ce bacille se trouve avec une grande constance dans les cas d'ozène ; d'autre part, il ne l'a jamais observé dans d'autres affections nasales. Il lui paraît donc vraisemblable qu'il est bien la cause de cette affection. Cependant son rôle se bornerait à la production des lésions de la muqueuse et il n'aurait rien à voir avec la production de l'odeur caractéristique de l'ozène. Celle-ci serait causée par d'autres microbes qui trouveraient un bon terrain de culture dans les sécrétions modifiées par le bacille de l'ozène. Souvent, en effet, M. Abel a rencontré (dans six cas) un petit bacille dont les cultures donnent une odeur se rapprochant de celle de l'ozène. Dans d'autres cas, il a trouvé d'autres bacilles également producteurs de mauvaises odeurs. Ceci expliquerait pourquoi l'odeur est loin d'être la même chez tous les malades.

E. F.

Prof. E. Pfuhl. — Sur l'infection des plaies d'armes à feu par les lambeaux d'étoffe entraînés par les projectiles (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIII, p. 487).

Dans le but de rechercher si les lambeaux d'étoffe que les projectiles d'armes à feu peuvent entraîner dans les blessures sont susceptibles de produire une infection des plaies, l'auteur a fait une série d'expériences sur des lapins et des souris en leur ino-

culant, soit sous la peau, soit dans les cavités pleurale et péritonéale des fragments d'étoffe de diverses grandeurs, pris sur différentes parties de vêtements portés par des soldats (chemises, bas, uniformes, etc.). Sur 51 fragments d'étoffe aucun ne détermine une infection. Par contre des lambeaux d'étoffe imprégnés intentionnellement de staphylocoques pyogènes produisirent une infection de la plaie. Il semblerait donc que les vêtements portés ne contiennent pas de microorganismes pyogènes, ou du moins s'ils en contiennent, ils sont tellement affaiblis qu'ils ne donnent plus lieu à une infection. M. Pfuhl en tire la conclusion pratique qu'il n'y a pas lieu de craindre la pénétration de lambeaux d'étoffe dans les blessures, ni de redouter le contact des vêtements avec les plaies jusqu'au moment où un pansement définitif puisse avoir lieu.

Les conclusions de M. Pfuhl sont, d'ailleurs, conformes à celles auxquelles le Dr A. Fränkel est arrivé dans un travail analogue.

E. F.

R. Pfeiffer. — L'étiologie de l'influenza (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIII, p. 357).

L'influenza a déjà suscité de nombreux travaux bactériologiques, un peu hâtifs peut-être, dont nous n'avons pas voulu entretenir nos lecteurs jusqu'ici avant que le temps eût apporté la confirmation des résultats annoncés. Le travail que vient de publier M. Pfeiffer, le Directeur de l'Institut pour les maladies infectieuses à Berlin, nous semble, toutefois, mériter d'être connu, car, bien qu'il n'apporte peut-être pas encore de preuves décisives, il contient cependant des constatations très intéressantes.

Les recherches de M. Pfeiffer ont été pratiquées pendant la dernière épidémie de l'hiver 1891-92. Il a surtout étudié les cas dans lesquels le processus grippal avait attaqué les bronches et les poumons ; on a, en effet, plus de chances de trouver le microbe supposé la cause de l'influenza à l'état de pureté dans le sputum venant des parties profondes que dans le mucus nasal ou pharyngien du début, qui contient toujours des masses de microorganismes divers. Les préparations que M. Pfeiffer fit ainsi lui montrèrent dans tous les cas la présence d'un bacille caractéristique en nombre étonnant et en culture presque pure. On les voit le mieux en les colorant au bleu de méthylène alcalin de Loeffler et surtout quand on emploie une faible solution de fuchsine phéniquée, à condition de laisser les préparations de 5 à 10 minutes dans la solution colorante. Ces bacilles ne sont pas tout à fait aussi larges que les bacilles de la septicémie des souris. Ils sont 2 à 3 fois aussi longs que larges ; quelquefois ils croissent en filaments. Ils

ne sont pas mobiles et ne se colorent pas d'après la méthode de Gram. Souvent les pôles prennent mieux la couleur que le milieu.

La culture de ces microorganismes causa les plus grandes difficultés à M. Pfeiffer. Sur plaques de gélatine ou d'agar, ils se refusèrent absolument à croître. Par contre, en inoculant le sputum ou le pus provenant du poumon directement sur de l'agar, l'auteur vit parfois croître de fines petites colonies, claires comme de l'eau et composées de ce bacille. Mais là s'arrêta la croissance. Toutes les inoculations subséquentes de ces colonies sur agar, sérum ou autres milieux restèrent sans résultat. Aucunes cultures ne s'obtenaient non plus en première génération quand, au lieu d'inoculer le sputum non dilué, on le diluait d'abord dans de l'eau ou dans du bouillon, ou quand le sputum avait été lavé d'après la méthode de M. Kitasato dans de l'eau stérile. M. Pfeiffer en tira la conclusion que les premières inoculations ne prenaient que parce que la matière ensemencée contenait certaines substances propres à nourrir les bacilles et il chercha alors longtemps un milieu nutritif qui contînt ces substances. Après de longues recherches, il découvrit qu'en étalant quelques gouttes de sang stérile sur de l'agar, ce dernier devenait un milieu éminemment propice pour cultiver ce bacille. On peut ainsi le cultiver de génération en génération. Dès qu'on supprime le sang, toute croissance cesse. Des recherches ultérieures montrèrent que c'est l'hémoglobine qui contient les principes nécessaires à l'existence de ce curieux microbe. M. Pfeiffer avait d'abord employé du sang humain. Il constata plus tard qu'on peut également se servir du sang de lapins, de cobayes, de pigeons et même de poissons.

M. Pfeiffer procède maintenant ainsi. Il commence par diluer le sputum et l'ensemence en partie sur agar recouvert de sang, en partie sur agar ordinaire. Ce dernier doit rester stérile ou ne contenir que des contaminations fortuites, et seuls les tubes préparés avec du sang donnent des cultures du bacille. Après 24 heures passées à l'étuve, celles-ci se voient sous forme de gouttelettes rapprochées et claires comme de l'eau. Quand il y a beaucoup de colonies, elles restent généralement petites; quand elles sont moins nombreuses, elles peuvent atteindre la grosseur d'une tête d'épingle, mais restent toujours transparentes. Les bacilles croissent bien aussi dans du bouillon contenant du sang. Ils sont absolument aérobies. Ils ne croissent pas au-dessous de 26° à 27°, ni au-dessus de 42°. Dans l'eau ces bacilles périssent rapidement; au bout de 8 heures de séjour dans ce liquide, déjà, ils ne donnent plus de cultures quand on les reporte sur agar au sang. Les cultures dans le bouillon et sur agar restent vivantes pendant 14-18 jours. Les bacilles sont très sensibles à la dessiccation. Desséchés à l'étuve, ils meurent en 1 à 2 heures. A la température de la chambre et dans l'air assez humide du laboratoire, ils ne meurent qu'après

environ 8 heures. Le sputum desséché est stérile après 36 à 40 heures.

Si ce bacille est bien la cause de l'influenza, la contagion ne pourrait donc guère s'effectuer que par des sécrétions encore humides.

Dans le sang, M. Pfeiffer n'a jamais retrouvé ces bacilles. Il conteste donc leur identité avec ceux que M. Canon a trouvés dans le sang de personnes atteintes d'influenza. Du reste, l'examen des cultures de M. Canon lui permet d'affirmer que ces dernières ne contiennent pas son bacille.

Pour prouver que son bacille est bien la cause de l'influenza, M. Pfeiffer l'a inoculé à des singes. Ses expériences ont porté sur cinq animaux, mais nous devons avouer que les résultats ne sont pas absolument concluants, tant chez les animaux inoculés avec du sputum que chez ceux inoculés avec des cultures pures. Les cultures contiennent cependant des substances toxiques, même pour les lapins, ce qui parle en faveur d'une action pathogène. Ces expériences appellent nécessairement un complément de recherches; cependant il paraît indubitable, d'après les recherches de M. Pfeiffer, que ce bacille ne se trouve que dans des cas d'influenza et cela en quantités énormes. En outre, la difficulté avec laquelle il se cultive montre que l'on n'est pas en présence d'un vulgaire saprophyte. Si la preuve n'est pas encore faite, il y a du moins assez de probabilité que ce microorganisme joue un rôle dans l'étiologie de l'influenza.

E. F.

Dr Stagnitta-Balistreri. — **De la fréquence de la production d'hydrogène sulfuré chez les bactéries** (*Archiv für Hygiene*, XVI, p. 10).

Plusieurs auteurs ont déjà étudié la production d'hydrogène sulfuré par les bactéries. Rappelons à cet égard les travaux de MM. Miquel et Holschewnikoff, publiés ici même (I, p. 323 et 257), Dans le présent travail, M. Stagnitta-Balistreri a recherché quelle était la fréquence de cette fonction chez les bactéries. Sur 35 espèces bactériennes examinées à ce point de vue, il en a trouvé 18 productrices de SH^2, tandis que 17 n'en formaient pas. Les espèces productrices d'hydrogène sulfuré sont les suivantes, classées d'après l'ordre de l'énergie de leur fonction: Bacille de la septicémie des lapins, *Proteus vulg.*, Typhus, Bac. Emmerich, *Bac. megaterium*, *Bac. coli*, B. Metschnikoff, Bacille rouge de Plymouth, Rouget du porc, Bacille rouge de Kiel, Bac. de Friedlaender, Bac. virgule, *Microc. agilis*, *B. pyocyaneus*, *Staph. aureus*, *Bac. acidi lactici*, *Bac. fulvus*, Lait bleu.

Les espèces qui n'ont pas donné de SH^2 sont: *Bac. subtilis*, Levure rose, Sarcine rose, Levure noire, Charbon, *Tetragenus*, *Spir.*

rubrum, *Bac. lividus*, *Bac. radicosus*, Sarcine jaune, Sarcine blanche, *Bac. mesentericus*, *Bac. ruber*, Sarcine orange, Diphtérie, *Bac. indigo gen.*, *Bac. violaceus.* E. F.

Dr Ed. Germano. — Le *Bacillus membranaceus amethystinus mobilis* (*Centralblat für Bakteriologie*, XII, p. 516).

Parmi les microorganismes producteurs d'une matière colorante, on en connaît déjà plusieurs qui donnent un pigment violet. D'abord le bacille violet de l'eau, qui est mobile, qui croît à 39° et qui liquéfie la gélatine ; ensuite le *Bacillus membranaceus amethystinus* trouvé par M. Tolles dans de l'eau de fontaine ; celui-ci est immobile. Puis le *Bacillus janthinus* (Zimmermann), le *Bacillus coerulus* (Smith), le *Bacillus lividus* de MM. Plagge et Proskauer, le *Bacillus berolinensis indicus* de M. Claessen, et enfin le *Micrococcus violaceus* (Cohn). Ces différentes bactéries sont décrites dans l'ouvrage de M. Eisenberg.

M. Germano ajoute à cette liste un nouveau bacille qu'il a isolé de l'air et auquel il a donné le nom de *Bacillus membranaceus amethystinus mobilis*. Celui-ci croît bien à la température de la chambre, mais pas à celle l'étuve. Il n'est pas anaérobie. Il liquéfie la gélatine, mais d'une manière à peine sensible. Il forme une membrane assez épaisse de couleur violette ; sur gélatine, la teinte en est beaucoup plus prononcée que sur d'autres milieux nutritifs. On obtient une membrane particulièrement belle quand on étale une goutte de culture dans du bouillon sur la surface inclinée d'un tube de gélatine. La coloration violette se produit peu à peu.

Le bouillon est trouble après un jour et se recouvre d'une membrane qui devient violette dans la suite. La coloration va de la périphérie au centre.

Il croît plus lentement sur agar, mais le colore aussi ; cependant ces cultures pâlissent avec l'âge.

Sur pomme de terre, il est brun.

Il croît aussi dans le lait qu'il coagule en 3 ou 4 jours.

Ce bacille est très mobile, il est à peu près aussi long que la bactéridie charbonneuse, mais plus mince et ne forme pas de filaments. Sa couleur est violet améthyste.

La matière colorante est soluble dans l'alcool; dans l'alcool additionné d'éther aussi, mais avec une teinte lilas, tandis que dans l'alcool pur, la nuance tire sur le bleu de ciel. La coloration dans ces dissolutions n'est pas attaquée par les alcalis, mais les acides la font disparaître.

E. F.

G. Klemperer. — **Recherches sur la vaccination de l'homme contre le choléra** (*Berliner Klinische Wochenschrift*, 1892, n° 39).

M. Klemperer, qui a déjà précédemment décrit un procédé de vaccination des cobayes et des lapins contre le choléra au moyen de cultures chauffées, étudie dans le présent mémoire l'application de sa méthode à l'homme. L'auteur et quelques collègues courageux ont essayé sur eux-mêmes l'action des cultures vaccinantes inoculées par la voie sous-cutanée, en procédant naturellement avec la plus grande prudence. Les symptômes qu'accusèrent ces observateurs nous paraissent ressembler à ceux qu'a notés M. Stanhope à la suite de sa vaccination anticholérique par le D[r] Haffkine, et nous renvoyons le lecteur pour de plus amples détails au mémoire de M. Klemperer. Ce qui nous a surtout paru fort ingénieux dans ses recherches, c'est le procédé imaginé par l'auteur pour démontrer l'action immunisante de ses vaccinations. Comment, en effet, savoir que l'homme vacciné a réellement acquis l'immunité contre le choléra ? Une preuve directe, par l'ingestion de cultures virulentes, n'est guère permise et, ceci même, la personne vaccinée eût-elle la témérité de le faire, ne prouverait rien encore, car on voit à chaque épidémie nombre d'individus ne pas contracter le choléra, quoiqu'ils aient bien certainement avalé de nombreux bacilles avec de l'eau ou d'autres aliments contaminés. C'est aussi la même raison qui fait que l'expérience tentée par M. Stanhope, malgré le louable courage dont il a fait preuve, ne prouve absolument rien, tant qu'une telle expérience reste limitée à un seul ou à un petit nombre d'individus. Pour pouvoir en tirer des conclusions certaines il faudrait vacciner plusieurs milliers de personnes, et constater, à l'occasion d'une épidémie, que la maladie ne fait aucune victime parmi elles, et n'attaque que les non vaccinées. C'est ainsi seulement qu'a été établie, par exemple, l'efficacité de la vaccination jennérienne. Le procédé de M. Klemperer est tout autre. Se fondant sur le fait que le sérum des animaux vaccinés contre différentes maladies infectieuses acquiert un pouvoir immunisant contre ces maladies, il a recherché si le sérum de ses vaccinés pourrait servir à immuniser les cobayes contre le choléra. Il fallait cependant avant tout constater si le sérum d'individus non vaccinés n'exerce pas peut-être aussi une action immunisante chez le cobaye ; le fait, en effet, que l'homme est fréquemment réfractaire au choléra, donne quelque probabilité à cette hypothèse. L'expérience la confirma. Sur 5 personnes chez lesquelles différents accidents avaient nécessité une saignée, deux donnèrent un sérum doué de propriétés nettement antitoxiques à l'égard du virus cholérique. Un à 2 centimètres cubes de ces deux sérums conféraient l'immunité aux cobayes ; des doses de 0,75 centimètres cubes, au contraire, res-

taient sans effet. L'ordre de preuve tenté par M. Klemperer à l'égard du sérum des personnes vaccinées ne pouvait dès lors fournir d'argument valable que si l'on parvenait à constater qu'il jouit d'un pouvoir toxinicide beaucoup plus marqué. Les faits répondirent ici à son attente, car avec 0,25 centimètres cubes seulement de sérum de vaccinés il rendit les cobayes réfractaires à l'inoculation de doses sans cela sûrement mortelles. Ce n'est pas encore une preuve absolue, il est vrai, d'un état réfractaire créé chez les personnes vaccinées; les qualités acquises de ce fait par leur sérum, prouvent cependant que l'inoculation des cultures vaccinantes exerce une action marquée sur l'organisme, analogue à celle que l'on observe chez les animaux auxquels une vaccination confère une véritable immunité à l'égard d'autres maladies.

Dans le cours de ses expériences, M. Klemperer constata que l'effet de la vaccination est d'autant plus fort que le virus inoculé est plus actif. Aussi se décida-t-il à employer des cultures de moins en moins atténuées et finalement des cultures tout à fait virulentes. Il put constater alors que le bacille cholérique qui provoque de si terribles désordres dans l'intestin de l'homme, ne cause chez lui, quand on l'inocule sous la peau, qu'une légère inflammation accompagnée de symptômes généraux modérés. Des doses moindres de culture virulente suffisent aussi pour la vaccination (dont l'effet est constaté par les propriétés immunisantes du sérum pour le cobaye), que quand on emploie des cultures chauffées à 70° (0,35 cm³ au lieu de 3,6 cm³). Il nous paraît cependant, en lisant les expériences de M. Klemperer, que le sérum des personnes vaccinées par des doses répétées de cultures chauffées était plus actif que celui des personnes vaccinées par une seule dose de culture virulente.

Nous n'avons pas ici à nous prononcer sur la valeur de ces vaccinations, cependant il nous paraît difficile de ne pas attirer l'attention sur la similitude presque parfaite qui existe entre les divers procédés mis récemment en œuvre de différents côtés pour trouver le vaccin du choléra et la méthode du Dr Ferran dont personne ne parle aujourd'hui. En principe, sa méthode était identique : inoculation sous-cutanée de cultures cholériques. Encore l'auteur espagnol produisait-il des statistiques destinées à démontrer l'efficacité de son procédé. Si les expériences actuellement en cours devaient aboutir à constater les bons résultats de ces vaccinations, il me semble qu'il ne serait qu'équitable de rappeler que la priorité en revient certainement au Dr Ferran.

E. F.

Dr A. Lazarus. — **Sur l'action antitoxique du sérum de sang des malades guéris du choléra** (*Berliner klinische Wochenschrift*, 192, n° 43).

A l'analyse que nous venons de faire du travail de M. Klemperer, nous pouvons ajouter celle du mémoire de M. Lazarus, qui le compléte et l'étend. Tandis que M. Klemperer recherchait si le sérum des personnes vaccinées artificiellement contre le choléra possédait une action antitoxique. M. Lazarus, lui, a examiné, à cet égard, le sérum de sang de personnes ayant contracté le choléra et s'en étant guéries. Il va sans dire que le caractère de la maladie avait toujours été établi par la constatation du bacille virgule.

Dans une première série d'expériences, ce sérum fut employé à vacciner des cobayes auxquels on inocula plus tard (5 à 6 heures après) le bacille cholérique. Il en résulte que le sérum de personnes venant de surmonter une attaque de choléra procure aux cobayes une immunité extraordinaire contre l'intoxication cholérique. La dose minimum procurant l'immunité est de 0,0001 centimètre cube; mais cette dose, bien qu'empêchant la mort de l'animal, ne le soustrait pas à une maladie passagère, tandis que les doses plus fortes enlèvent toute nocivité à l'inoculation cholérique. Il est inutile d'ajouter que les animaux non préalablement traités périssaient tous. D'après le système de M. Behring, qui calcule l'action immunisante d'un sérum d'après la proportion de 1 gramme de sérum par grammes d'animal, l'action antitoxique de ce sérum de cholériques guéris serait de 1 : 3,000,000, proportion qui n'a encore été atteinte dans aucun cas d'immunisation artificielle par des sérums de sang.

Dans une seconde série d'expériences, M. Lazarus a cherché à guérir des cobayes auxquels il commençait par inoculer le choléra. Il ressort de ces expériences que le traitement reste généralement sans effet quand on attend, pour l'instituer, que l'animal présente déjà des symptômes manifestes de maladie (abaissement de la température). On empêche, par contre, l'éclosion de la maladie, quand on commence le traitement avant les symptômes visibles de la maladie. L'inoculation reste également sans effets nuisibles quand on commence le traitement de suite après.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Janvier* 1893

DESIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimet.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 1 du 1er Janvier au 3 Janvier 1893. . .	1.665	340	— 4°,7	1mm,5	N	9km,9	131	229
N° 2 » 8 » » 14 » » . . .	1.670	1.000	— 0 ,5	24 ,2	NE	12 ,6	136	275
N° 3 » 15 » » 21 » » . . .	1.835	840	— 4 ,5	16 ,0	S	12 ,5	115	271
N° 4 » 22 » » 28 » » . . .	340	330	+ 4 ,2	6 ,6	W	13 ,1	131	283
N° » » » » » . . .	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	1.380	630	— 1°,4	48mm,3	Var.	12km,0	513	1.058
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Janvier 1893. Bactéries = 2.750 Moisissures = 6.750 Température = 7°,0

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Janvier 1892. Bactéries = 96 Moisissures = 90 Température = — 1°,4

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Janvier* 1893

DESIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Janvier 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	1.128	1.250	»	Canalis. = 600 bactér.
» de la Dhuis à Menilmontant.	1.700	3.825	»	Canalis. = 1.300 »
» » »	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	69.500	58.430	0°,4	»
» de la Seine à Ivry	87.500	54.280	1°,1	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	132.500	76.810	»	Hauteur = 1m,20
» de la Seine au pont de l'Alma.	158.000	200.960	»	»
» de la Seine épurée (Colombes)	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	57.500	75.845	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits rue Princesse à Paris	2.000	»	»	»
» du Jardin modèle (Asnières).	23.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	»	3.280	»	»
» d'Asnières	1.400	2.330	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	11.000.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	»	27.405.000	»	»
» » traitée à Bondy	25.000	119.185	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Février* 1893

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNEES METEOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 5 du 29 Janvier au 5 Février 1893 . .	670	500	6°,1	11mm,4	S.W	19km,7	122	211
N° 6 » 6 Février » 12 » » . .	500	1.000	4 ,4	8 ,5	S	18 ,2	111	193
N° 7 » 13 » » 19 » » . .	5.350	660	7 ,7	3 ,8	S.W	22 ,6	118	178
N° 8 » 20 » » 26 » » . .	6.500	340	7 ,1	33 ,5	S.W	18 ,0	98	158
» » » » »	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	3.255	625	6°,3	57mm,2	S.W	19km,6	449	740
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Février 1893. Bactéries = 3.000 Moisissures = 3.000 Température = 8°,6

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Février 1893. Bactéries = 111 Moisissures = 100 Température = 6°,3

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Février* 1893

DESIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Février 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	4.225	1.250	»	Canalis. = 1.675 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	8.900	3.825	»	Canalis. = 21.300 »
» » » »	»	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	567.000	58.430	4°,7	»
» de la Seine à Ivry	137.000	54.280	5°,4	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	377.000	76.810	»	Hauteur = 3m,00
» de la Seine au pont de l'Alma	1.110.000	200.960	»	»
» de la Seine épurée (Colombes)	»	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	123.000	75.845	»	»
» d'autres provenances.	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Eau du puits Avré à Alfortville	13.000	»	»	»
» du puits Lanvin à Colombes.	324.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur.	»	3.280	»	»
» d'Argenteuil	»	19.390	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	12.000.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du depotoir de l'Est	21.000.000	27.405.000	»	»
» » traitée à Bondy.	50.000	119.185	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

Brieger et Ehrlich. — Beitræge zur Kenntniss der Milch immunisirter Thiere. Contribution à la connaissance du lait des animaux immunisés (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XIII, p. 336).

Dr Neebe et Dr Unna. — Die bisher bekannten neun Favusarten. Les neufs espèces de favus connues jusqu'ici (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 1).

Dr Eug. Fraenkel. — Ueber die Aetiologie der Gasphlegmonen. De l'étiologie des phlegmons emphysémateux (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 13).

Dr H. Krannhals. — Zur Kenntniss des Wachsthums der Kommabacillen auf Kartoffeln. Contribution à la connaissance de la croissance du bacille du choléra sur la pomme de terre (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 33).

Prof. G. Tizzoni et Dr E. Centanni. — Die Vererbung der Immunität gegen Rabies von dem Vater auf das Kind. De la transmission héréditaire par le père de l'immunité à l'égard de la rage (*Centralblatt für Bacteriologie*, XIII, p. 80).

Prof. Finkelnburg. — Zur Frage der Variabilität der Cholerabacillen. Contribution à la question de la variabilité du bacille cholérique (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 113).

Dr E. Weibel. — Uber eine neue, im Brunnenwasser gefundene Vibrionenart. Sur une nouvelle espèce de vibrion trouvée dans l'eau de fontaine (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 117).

Dr Bujwid. — Ueber zwei neue Arten von Spirillen im Wasser. Sur deux nouvelles espèces de spirilles dans l'eau (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 120).

Dr Arnd. — Ueber die Durchgängigkeit der Darmwand eingeklemmter Brüche für Mikroorganismen. Sur la perméabilité, à l'égard des microorganismes, de la paroi intestinale des hernies étranglées (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 173).

Dr Hugo Laser. — Ein neuer für Thiere pathogener Bacillus. Un

nouveau bacille pathogène pour les animaux (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 218).

Dr Trenkmann. — Beitrag zur Biologie der Komma Bacillen. Contribution à la biologie des bacilles du choléra (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 313).

R Heerwagen. — Ueber die Benutzung von Vaccine zur Prüfung der Wirksamkeit von Desinfectionsmittelr. De l'emploi du vaccin pour déterminer l'action des désinfectants (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XIII, p. 387).

S. Fedoroff. — Zur Therapie der Cholera asiatica. Contribution à la thérapie du choléra asiatique (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIII, p. 393).

Behring et Knorr. — Ueber den Immunisirangswerth und Heilwerth des Tetanusheilserums bei weissen Maüsen. Sur la valeur immunisante et curative chez les souris blanches du sérum à action curative à l'égard du tétanos (*Zeitschrift für Hygiene und Infections-krankheiten*, XIII, p. 407).

Knorr. — Experimentelle Untersuchungen über den *Streptococcus longus*. Recherches expérimentales sur le *Streptococcus longus* (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIII, p. 427).

Green. — Ueber den Werth der Kupfersalze als Desinfections mittel. De la valeur des sels de cuivre comme désinfectants (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIII, p. 495).

Dr Enrico Ferrati. — Zur Unterscheidung des Typhus-bacillus vom *Bacterium coli commune*. Contribution à la différentiation du bacille du typhus du *Bacterium coli commune* (*Archiv für Hygiene*, XVI, p. 1).

Prof. Gruber. — *Mycromyces Hofmanni*, eine neue pathogene Hyphomycetenart. *Mycromyces Hofmanni*, une nouvelle espèce d'hyphomycète pathogène (*Archiv für Hygiene*, XVI, p. 35).

Dr E. Cramer. — Die Zusammensetzung der Bakterien in ihrer Abhängigkeit von dem Nährmaterial. De la constitution des bactéries et de leur dépendance du terrain nutritif (*Archiv für Hygiene*, XVI, p. 151).

Dr Sander. — Ueber das Wachsthum von Tuberkelbacillen auf pflanzlichen Nährböden. De la croissance du bacille de la tuberculose sur les milieux nutritifs de nature végétale (*Archiv für Hygiene*, XVI, p. 238).

Dr Lorenz. — Ein Schutzimpfungsverfahren gegen Schweinerothlauf. Un procédé de vaccination contre le rouget (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 357).

E. Klein. — Die Anticholera-Vaccination. La vaccination anticholérique (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 426).

P. Dronbach. — Plattenverfahren zur Reinkultur von Mikroorganismen auf flüssigen Nährböden. Cultures sur plaques sur milieux liquides pour les cultures pures de microorganismes (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 455).

M. Walters. — Der *Bacillus lepræ*. Le bacille de la lèpre. (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, 469).

Dr Sanarelli. — Moyens de défense de l'organisme contre les microbes, après vaccination et dans la guérison (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 225).

Issaef. — Contribution à l'étude de l'immunité acquise contre le pneumocoque (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 260).

Diatroptoff. — Bactéries charbonneuses dans la vase du fond d'un puits (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 286).

David Bruce. — Sur une nouvelle forme de fièvre rencontrée sur les bords de la Méditerranée (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 289).

E. Duclaux. — Sur le rôle protecteur des microbes dans la crème et les fromages (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 305).

Ad. Lucet. — Recherches bactériologiques sur la suppuration chez les animaux de l'espèce bovine (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 325).

Nicolle et Cantacuzène. — Propriétés colorantes de l'oxychlorure de ruthénium ammoniacal (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 331).

H. Pottevin. — Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1892 (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, p. 335).

L'Éditeur-Gérant: Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE
ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*) (1)

Par le Dr P. MIQUEL

Diagnostic des ferments de l'urée

En résumé, les ferments de l'urée qui ont été étudiés dans les paragraphes précédents sont au nombre de *dix-sept*.

Sept appartiennent à la tribu des bacilles.

Neuf appartiennent à la tribu des microcoques.

Un doit être rangé dans la famille des sarcines.

Les caractères de ces diverses espèces sont suffisamment tranchés pour permettre à l'observateur de les distinguer les unes des autres ; néanmoins, je vais condenser ces caractères dans deux tableaux, ce qui les mettra plus vivement en relief et facilitera la différenciation rapide des espèces urophages. Le nombre des ferments de l'urée s'élevant environ à une soixantaine d'espèces, il arrivera sans doute souvent que l'expérimentateur se trouvera dans l'impossibilité d'identifier l'urobactérie recueillie avec une des dix-sept que je considère ici. Quoi qu'il en soit, il trouvera, dans la classification proposée, une place pour loger le ferment, non encore décrit, auprès de ceux qu'il m'a été donné de rencontrer assez fréquemment dans l'air, le sol et les eaux.

Pour rester conséquent avec ma manière de voir relative à la classification des schizomycètes, j'ai tout d'abord groupé les microorganismes urophages d'après leur énergie fermentaire, puis ensuite d'après leur résistance aux agents phy-

(1) Voir les tomes précédents de ces *Annales*.

siques dont le plus facile et le plus aisé à étudier à la chaleur, et enfin d'après quelques caractères tirés de la morphologie, de l'aspect des cultures, etc... Je suppose, évidemment, qu'un premier examen a fixé le bactériologiste sur la tribu ou la famille à laquelle appartient l'urobactérie.

On objectera peut-être que la détermination du caractère que je considère comme fondamental : l'énergie fermentaire, n'offre pas toute la simplicité pratique désirable. Elle exige, en effet, l'isolement du ferment figuré à l'état de pureté absolue, son ensemencement dans des urines artificielles spécialement préparées, enfin des dosages d'urée qu'on peut habituellement transformer en simples dosages alcalimétriques, opérations auxquelles, cependant, il faut être préparé et qui réclament un temps plus ou moins long.

Cette objection ne me touche guère, je reproche précisément à beaucoup d'auteurs de vouloir par trop simplifier les recherches sur les bactéries. Si le but qu'ils poursuivent est louable, néanmoins, en voulant mettre les études bactériologiques à la portée de tous, ils compromettent l'avenir d'une science qui, plus que toute autre, a besoin de reposer sur des expériences longuement contrôlées et toujours très délicates à poursuivre. Aussi voit-on, quand on suit de près la littérature bactériologique, à côté de recherches d'une grande valeur, affluer de tous les pays des travaux d'une faiblesse extrême, quand ils ne sont pas erronés. Un bacille n'est pas plutôt découvert, après de laborieuses années de recherches, que les élèves les moins érudits le retrouvent en abondance dans les éléments qui nous entourent : ici, c'est l'air qui charrie en grand nombre le bacille de la tuberculose découvert par le Dr Koch, là les cours d'eau abondent en bacilles d'Eberth, et enfin il est des élèves et même des médecins qui sont si sûrs d'eux-mêmes qu'un simple aspect microscopique ou cultural suffit pour amener dans leur esprit la certitude d'un bon diagnostic. La responsabilité de cet état de choses, qu'on peut qualifier de fâcheux sinon de grave, remonte à ceux qui conservent l'illusion de faire des bactériologistes en une douzaine de leçons.

Pour ma part, je supposerai toujours que ceux qui entre-

prennent des recherches sur les microbes zymogènes et pathogènes abordent de semblables questions après de solides études ; qu'ils sont capables aussi bien de fabriquer des liqueurs titrées, de pratiquer des dosages précis et de déterminer des composés chimiques que de faire une autopsie, de reconnaître les lésions engendrées par les espèces virulentes et de pouvoir, à l'occasion, mettre en œuvre toutes les ressources de la technique bactériologique.

J'ai donc pensé que ceux qui aborderaient l'étude des ferments de l'urée sauraient faire un dosage précis de cette substance, et c'est en me reposant sur cette conviction que j'ai cru devoir classer les espèces urophages d'après leur degré d'activité.

TABLEAU I

Détermination des Urobacilles

Urobacilles décomposant plus de 1 gramme d'urée par heure.	L'urobacille décompose 3 grammes d'urée par heure ; il peut se cultiver à 40°. Ses spores résistent à 90°. L'espèce est formée d'articles *gros*, *mobiles*, *incultivables* dans le bouillon et la gélatine peptonisée neutres (planche III, *fig.* 1). . . . . Urobacillus Pasteurii.
	Le bacille décompose 1 gr. 50 d'urée par heure. Il peut se cultiver à 40°. Ses spores résistent à 90°. L'espèce est formée par des articles *grêles*, *mobiles*, *incultivables* dans le bouillon et la gélatine peptonisée neutres (planche III, *fig.* 2). Urobacillus Duclauxii.
Urobacilles décomposant *moins* de 1 gramme d'urée par heure et *au moins* 5 grammes d'urée par jour.	Le bacille décompose 8 grammes d'urée en 24 heures. Il peut se cultiver à 40°. Ses spores résistent à 90°. L'espèce est formée d'articles *gros*, *mobiles*, *difficilement cultivables* dans la gélatine et le bouillon peptonisés neutres. Formes involutives particulières (planche III, *fig.* 4 et 5) . . . . Urobacillus Maddoxii.
	Le bacille décompose 6 grammes d'urée en 24 heures. Il ne peut se cultiver à 40°. Les spores résistent à 90°. L'espèce est formée d'articles *mobiles*, *assez courts* dans les milieux liquides, et en *longs filaments* dans les milieux solides. Ce bacille *se cultive très aisément* dans le bouillon et la gélatine, qui est *liquéfiée lentement* (planche III, *fig.* 3) . . . . . Urobacillus Frevdenreichii.
	Le bacille décompose 5 grammes d'urée en 24 heures. Il ne se cultive pas à 40°. Ses spores résistent à 90°. Il est formé d'articles *gros*, *assez courts*, *immobiles*, aisément cultivables dans le bouillon et la gélatine peptonisés neutres ; cette dernière *n'est pas liquéfiée* (planche III, *fig.* 6) . . . . Urobacillus δ.
Urobacilles décomposant moins de 5 grammes d'urée par jour, à action lente ou incomplète.	Bacille pouvant dédoubler 14 grammes d'urée par litre au maximum. Espèce tuée à 45° ; formée d'articles *courts*, *très petits*, *très mobiles*, croissant *très aisément* dans les milieux nutritifs, *liquéfiant rapidement* la gélatine peptonisée (planches IV, *fig.* 2). Urobacillus Schutzenbergii.
	Bacille décomposant 0 gr. 50 d'urée par 24 heures. Spores résistant à 90°. Espèce formée par des articles *gros*, *immobiles*, quelquefois en longs filaments ; pouvant croître dans tous les milieux nutritifs neutralisés, et *ne liquéfiant* pas la gélatine (planche IV, *fig.* 1). Urobacillus ε.

PLANCHE III

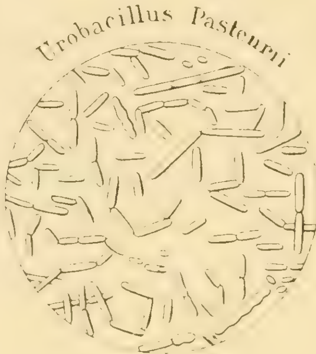


Fig. 1

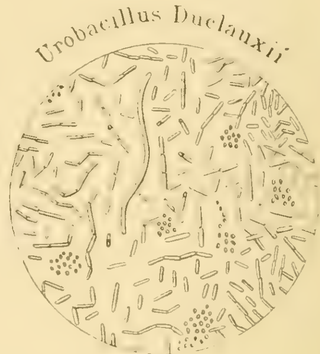


Fig. 2

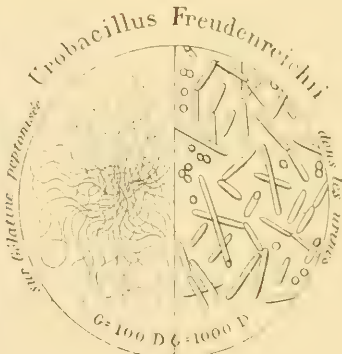


Fig. 3.

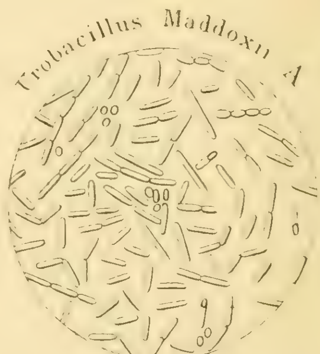


Fig. 4

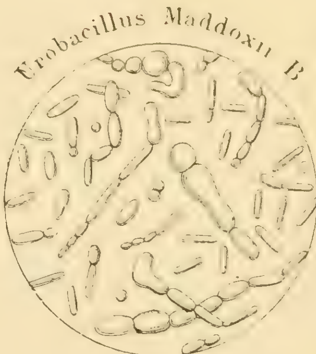


Fig. 5



Fig. 6

Grossissement = 1000 D.

Planche IV

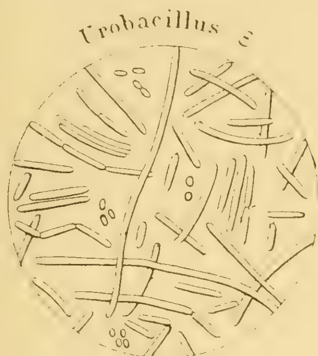


Fig 1

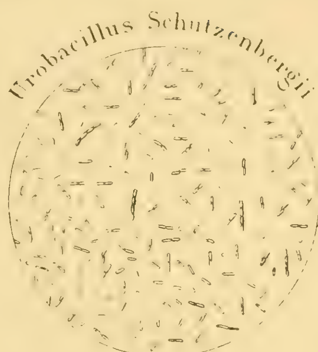


Fig 2

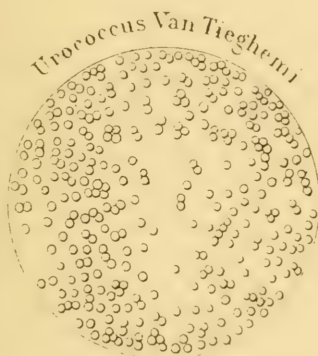


Fig 3

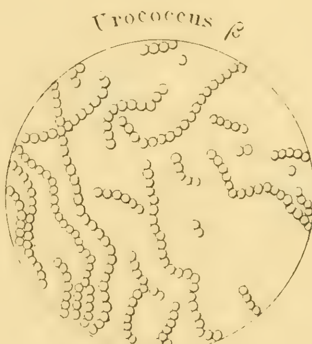


Fig 4

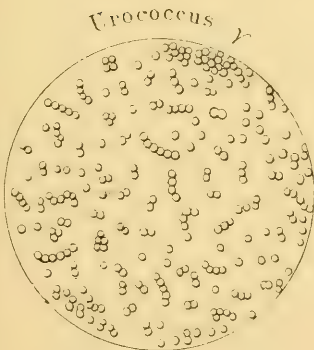


Fig. 5

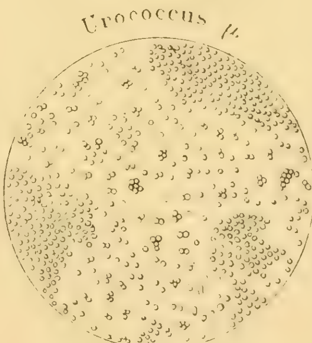


Fig 6

Grossissement = 1000 D.

Tableau II

Détermination des Urocoques

Urocoques décomposant de 2 à 5 gr. d'urée en 24 h.	Coccus sphériques	Coccus décomposant 5 grammes d'urée par jour ; formé de cellules circulaires de 1μ de diamètre ; croissant aisément dans tous les milieux nutritifs, et *ne liquéfiant* pas la gélatine. Culture blanche jaunissant avec le temps. (Planche IV, *fig.* 3)	Urococcus Van Tieghemi.
		Coccus décomposant 2 grammes d'urée par jour ; cellules sphériques donnant de belles cultures blanches dans la plupart des milieux nutritifs, *liquéfiant* légèrement la gélatine. (Planche IV, *fig*, 3)	Urococcus γ.
	Coccus ovalaire	Espèce décomposant 5 grammes d'urée par jour ; donnant aisément sur les milieux nutritifs des cultures jaunâtres, *incapables de liquéfier* la gélatine. (Planche V, *fig.* 3)....	Urococcus Dowdeswelli.
	Coccus associés en cubes	Espèce décomposant en moyenne 2 grammes d'urée par jour ; croissant dans la plupart des milieux nutritifs, où elle donne des *végétations jaunes, ne liquéfiant* pas la gélatine. Les milieux liquides ne sont pas troublés par le développement de cette espèce. (Planche V, *fig.* 6).	Urosarcina Hansenii.
Urocoques décomposant de 1 à 2 gr. d'urée en 24 h.		Espèce décomposant 1 gr. 5 d'urée par jour ; formée de cellules sphériques croissant sur les milieux demi-solides en donnant des *enduits grisâtres*, muqueux, *ne liquéfiant* pas la gélatine ordinaire. (Planche V, *fig.* 6.).	Urococcus μ.
		Coccus décomposant un peu plus de 1 gramme d'urée par jour ; formé de cellules sphériques associées en tas, se développant très bien dans tous les milieux nutritifs, fournissant des dépôts et enduits *jaune de chrome* foncé ; espèce *non liquéfiante*. (Planche V, *fig.* 5)	Urococcus ε.
		Coccus décomposant 1 gramme d'urée par jour ; formé de cellules sphériques associées en chaînes donnant des cultures blanches *liquéfiant lentement* la gélatine. (Planche V, *fig.* 4)......................................	Urococcus β.
Urocoques décomposant moins de 1 gr. d'urée en 24 h.		Coccus décomposant près de 1 gr. d'urée par jour ; formé de cellules sphériques de 1,5 μ de diamètre associées en plaques ; donnant des cultures colorées en *jaune ocre clair*, se multipliant sur tous les milieux nutritifs solides ; *liquéfiant* très légèrement la gélatine peptonisée en donnant un liquide visqueux. (Planche V, *fig.* 4.)	Urococcus δ.
		Coccus décomposant de 0 gr. 6 à 0 gr. 7 d'urée par jour, et d'action incomplète ; formé de cellules sphériques de 1 μ de diamètre, croissant *très péniblement* dans la plupart des milieux nutritifs et *sans pouvoir liquéfiant*. (Planche V, *fig.* 2)	Urococcus ν.
		Coccus décomposant à peu près 0 gr. 50 d'urée par jour, formé de grosses cellules sphériques de 1,5μ donnant sur les milieux nutritifs solides des enduits *blanc rosé, non liquéfiants* (Planche V, *fig.* 1).................	Urococcus ρ.

PLANCHE V

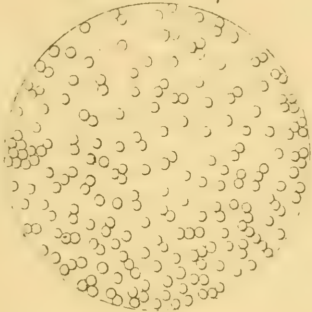


Fig. 1

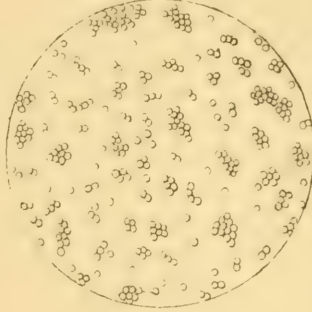


Fig. 2

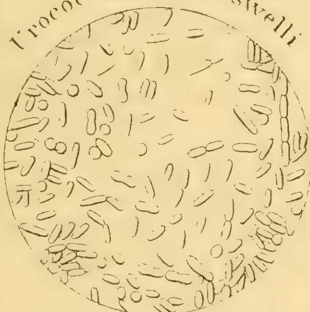


Fig. 3

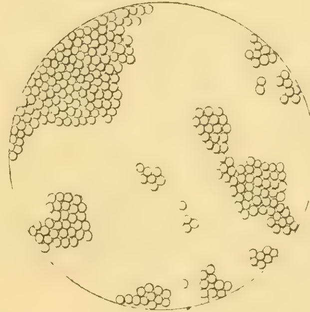


Fig. 4

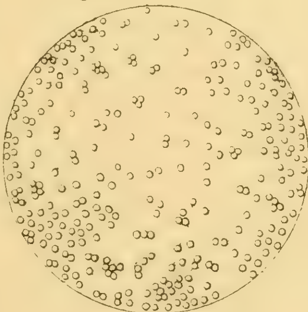


Fig. 5



Fig. 6

Grossissement: 1000 D.

OBERLIN, DEL

L'un des premiers signes caractéristiques des ferments de l'urée, réside, je l'ai répété bien souvent, dans la faculté que possèdent les colonies ou les cultures des urobactéries de forte ou moyenne activité, de déterminer dans le sein des *substratum* semi-solides chargés de 2 p. 100 de carbamide, une sorte de brouillard cristallin, constitué par des cristaux incolores adoptant la forme d'haltères, c'est-à-dire de deux boules soudées l'une à l'autre. Il n'y a guère que les ferments très lents de l'urée qui ne jouissent pas de cette propriété.

Ces cristaux insolubles dans l'eau froide et l'eau bouillante, inattaquables par les solutions chaudes de potasse caustique, sont au contraire très solubles dans les acides énergiques qui les décomposent et les dissolvent en produisant un vif dégagement d'acide carbonique. L'analyse chimique les montre formés d'acide carbonique, d'acide phosphorique et de chaux. Ils se produisent sous l'influence du carbonate d'ammoniaque aux dépens des sels alcalino-terreux que renferment la gélatine, l'eau et les autres éléments entrant dans la composition de milieux nutritifs propres au développement des bactéries urophages. M. Cambier, micrographe-adjoint de mon laboratoire, a entrepris de préparer une grande quantité de ces sortes de cristaux, et il n'est pas douteux que leur composition chimique ne soit bientôt connue.

Je ne crois pas qu'il existe de microorganismes, autres que les ferments de la carbamide, qui puissent produire ce phénomène de brouillard de cristaux en haltères ; parfois, mais très rarement, sur les plaques où végètent un grand nombre de colonies entremêlées de ferments ammoniacaux, on voit apparaître quelques cristaux autour d'espèces qui sont incapables d'hydrater l'urée ; j'ai déjà signalé ce fait et j'attribue la production de ces substances cristallines à la formation des sels ammoniacaux, peu solubles, dont les acides sont sécrétés par les bactéries.

Quand donc une atmosphère, pareille à celle qui vient d'être décrite, apparaît autour d'une colonie, on prélève cette dernière au moyen du fil de platine rougi et on en transporte, une partie sous le microscope et une autre dans

de l'urine artificielle stérilisée (1). On peut, il est vrai, se servir également dans ces expériences des urines naturelles stérilisées, mais elles sont, en général, si peu comparables à elles-mêmes et si peu nutritives à l'égard de la plupart des bactéries qu'on a tout avantage à employer les bouillons de peptone chargés d'urée.

Rarement les colonies ainsi ensemencées dans les urines sont dans un parfait état de pureté : 98 fois sur 100 elles sont contaminées par des espèces non urophages, et souvent par des ferments ammoniacaux d'inégale activité. Il faut donc sans tarder prélever une portion de l'urine fermentée, la diluer et fabriquer plusieurs plaques avec de la gélatine additionnée d'urée. Cette première opération est suivie d'une nouvelle et, s'il le faut, d'une troisième purification. Alors, si les examens microscopiques de liquide fermenté concordent, si l'hydratation s'effectue suivant une marche régulière et s'accomplit dans des espaces de temps à peu près égaux, ce qui est l'indice le plus certain de la pureté de l'espèce, on est à peu près sûr que le ferment figuré est débarrassé des saprophytes qui, ordinairement, entravent l'action hydratante, la ralentissent et peuvent même la suspendre pendant longtemps.

Cependant la marche régulière d'une fermentation ammoniacale, son accomplissement dans des espaces de temps égaux ne sont pas toujours des indices absolus de la pureté des microbes urophages ; j'ai eu plusieurs fois l'occasion d'observer que, à côté des ferments ammoniacaux, il peut se développer une espèce saprogène qui, croissant toujours avec la même régularité dans les urines, entrave de même d'une façon régulière l'acte fermentaire jusqu'au

---

(1) Voici la composition adoptée pour l'urine artificielle :

Eau........................	1000 centimètres cubes.
Peptone Chapoteau...........	10 grammes.
Cendre de bois..............	0,05 grammes.
Urée pure...................	20 grammes.

On fait bouillir ce mélange quelques minutes, on le filtre, puis enfin on le stérilise à 110° pendant 20 à 40 minutes, suivant le volume de liquide contenu dans les vases. Cette urine artificielle refroidie est assez fortement alcaline, elle sature une quantité d'acide sulfurique correspondant par litre au carbonate d'ammoniaque mis en liberté par la décomposition d'un poids d'urée variant de 1 à 2 grammes.

moment où elle est éliminée, soit par l'action de la chaleur, soit par le procédé mécanique du Dr Robert Koch ; alors la fermentation, qui réclamait une douzaine de jours pour être achevée, se complète en moitié moins de temps à la surprise de l'observateur.

Pour déterminer le pouvoir fermentaire d'une urobactérie, on doit se servir soit de vases scellés, soit de flacons ou pipettes distributrices de Pasteur bien bouchés. On détermine d'abord en combien de jours s'effectue l'hydratation complète de l'urée ; puis, dans une fermentation bien en marche, on calcule la quantité d'urée décomposée par jour ou par heure, suivant les cas.

Le diagnostic de l'espèce est alors très avancé ; il reste à voir si elle donne des spores résistant à des hautes températures, à étudier à quel degré de chaleur elle est encore capable de déterminer la fermentation, ensuite à rechercher si elle peut se cultiver dans les terrains neutralisés, ou si son développement est lié à la présence, d'une alcalinité bien sensible dans les milieux nutritifs. Quand les espèces se développent sur la gélatine ordinaire, on pourra constater et noter leur faculté chromogène et liquéfiante, mais toujours s'en rapporter avec beaucoup de prudence aux aspects macroscopiques des cultures.

Voilà, dans ses grandes lignes, la marche qu'on peut adopter pour séparer les ferments de l'urée des organismes qui ne jouissent pas de la faculté d'hydrater ce corps chimique et quelques indications techniques qui peuvent aider à établir le diagnostic, toujours délicat, entre les divers ferments de la carbamide.

De la statistique des ferments ammoniacaux

Je rapporterai seulement ici les résultats qu'ont donné les analyses systématiques effectuées pendant les années 1890 et 1891 avec l'air de Paris, les eaux de diverses provenances et le sol des communes du département de la Seine. Ce travail considérable a été poursuivi sans interruption tous les jours des deux années précitées ; il est

basé sur 360 dosages bactériologiques de l'air atmosphérique et 18,000 dosages bactériologiques d'eaux. Beaucoup d'expériences n'ayant pas accusé de ferments ammoniacaux, pour obtenir des chiffres moyens voisins de la réalité, j'ai dû grouper suivant les cas ces analyses qualitatives et quantitatives par mois, par saison, par année, ou par période de deux ans.

Ces recherches peuvent être, en outre, considérées comme la suite de mes études sur la nature des bactéries urophages répandues dans l'air atmosphérique que j'ai publiées dans l'*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'an 1882. Il eût été peut-être intéressant de comparer ces anciennes données numériques aux chiffres obtenus récemment, mais je me vois dans l'impossibilité de le faire, par la raison que les liquides nutritifs employés à cette époque étaient : soit des urines naturelles, soit le bouillon de Liebig chargé d'urée, milieux bien moins sensibles aux bactéries que les bouillons peptonisés. D'autre part, j'avais alors, surtout, en vue d'établir la fréquence relative des divers microorganismes aériens capables d'hydrater l'urée, et le côté quantitatif de la question me semblait présenter un intérêt moindre.

Voici le tableau que j'ai publié il y a 12 ans (1), quatre ans avant que M. Leube eut réussi à mettre la main sur les bacilles ferments de la carbamide. Il est quelque peu plaisant de constater aujourd'hui qu'avant que cet expérimentateur eut décrit longuement ces bacilles de l'urée dans les *Annales de Virchow*, depuis déjà bon nombre d'années on connaissait le rapport existant, dans les poussières atmosphériques, entre ces bacilles et les autres ferments de l'urée.

De la nature des ferments ammoniacaux récoltés dans l'air à Montsouris, avec le secours

	de l'urine stérilisée à 110°	de l'urine normale stérilisée à froid	de l'urine neutralisée stérilisée à froid	Moyennes
Microcoques. . . .	64	70	80	71
Bacilles	24	16	16	19
Mucédinées	12	14	4	10
Cas de fermentation . .	100	100	100	100

(1) *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'année 1882, page 476.

Il résulte donc de ces chiffres que pendant l'été et l'automne de 1881, l'air du parc de Montsouris a été trouvé en moyenne 3 fois plus chargé d'urocoques que d'urobacilles, environ 2 fois plus chargé d'urobacilles que de mucédinées urophages. Ces résultats diffèrent peu de ceux qui sont publiés quelques pages plus loin.

Ferments ammoniacaux récoltés dans l'air au centre de Paris. — Je condense dans les deux tableaux suivants, en des moyennes mensuelles, les résultats de toutes les analyses bactériologiques effectuées en 1890 et 1891, dans le but d'établir le rapport existant entre les organismes vulgaires et les ferments ammoniacaux flottant dans l'air à proximité de la station micrographique de la caserne Lobau.

La 1re colonne de ces tableaux indique l'époque où les analyses ont été pratiquées ; la 2me, le nombre des bactéries décelées par les milieux de cultures non chargés d'urée ; la 3me, le chiffre des bactéries accusé en même temps par les milieux renfermant 2 p. 100 d'urée ; la 4me, le chiffre des ferments ammoniacaux comptés parmi les bactéries pouvant se rajeunir dans les milieux carbamidés ; enfin, la 5me colonne donne les rapports trouvés entre les espèces vulgaires et urophages. Tous ces chiffres sont rapportés au mètre cube

Teneur des poussières atmosphériques en urobactéries

1890	Milieux		Ferments de l'urée	Rapports
	ordinaires	carbamidés		
Janvier	4,800	5,610	115	49
Février	3,500	4,350	41	106
Mars	4,140	5,130	74	69
Avril	2,300	4,600	43	107
Mai	2,430	4,820	86	56
Juin	10,600	12,200	240	51
Juillet	11,200	13,400	208	64
Août	19,000	20,200	434	47
Septembre	12,800	14,900	174	86
Octobre	8,340	11,270	115	98
Novembre	7,170	9,260	87	106
Décembre	6,240	9,560	80	120
Moyenne annuelle	7,710	9,610	141	68

d'où l'on déduit, pour les saisons de l'année 1890, les données numériques suivantes :

Teneur des poussières atmosphériques en urobactéries

1890	Milieux ordinaires	Milieux carbamidés	Ferments de l'urée	Rapports
Hiver	4,146	5,030	77	65
Printemps	5,110	7,206	123	58
Été	14,330	16,170	272	59
Automne	7,250	10,030	94	106
Moyenne	7,709	9,608	141	68,2

Les analyses pratiquées durant l'année 1891 ont donné des résultats fort voisins de ceux qui précèdent.

Teneur des poussières atmosphériques en urobactéries

1891	Milieux ordinaires	Milieux carbamidés	Ferments de l'urée	Rapports
Janvier	3,770	5,310	115	46
Février	5,460	8,330	125	66
Mars	8,520	9,700	106	91
Avril	3,800	5,800	100	58
Mai	10,400	12,620	250	51
Juin.	14,680	16,800	240	70
Juillet.	14,900	16,000	172	93
Août	13,900	14,600	280	52
Septembre	10,540	10,620	154	63
Octobre.	8,960	10,540	110	96
Novembre.	5,090	5,780	110	53
Décembre.	1.910	2.160	50	43
Moyenne annuelle. . .	8,430	9,855	151	65

D'où pour les quatre saisons de l'année :

Teneur des poussières atmosphériques en urobactéries

1891	Milieux ordinaires	Milieux carbamidés	Ferments de l'urée	Rapports
Hiver	5,920	7,788	115	67
Printemps.	9,625	11,740	197	59
Été	12,846	13,740	202	68
Automne	5,320	6,170	90	68
Moyenne. . . .	8,840	9,855	151	65

et, en prenant la moyenne des années 1890 et 1891, on obtient :

Teneur des poussières atmosphériques en urobactéries.

	Milieux		Ferments de l'urée	Rapports
	ordinaires	carbamidés		
Année.	7,710	9,610	141	68
Année.	8,430	9,855	151	65
Moyenne générale . . .	8,430	9,855	146	67

Un des premiers faits intéressants que l'on observe en comparant les résultats des dénombrements des germes atmosphériques des bactéries, au moyen des terrains ou milieux simplement peptonisés et au moyen des milieux chargés d'urée, réside dans l'inégalité des données numériques fournies par ces dosages parallèles effectués d'une manière identique.

En effet, les milieux uniquement nutritifiés par la peptone accusent en moyenne 8,070 bactéries par centimètre cube, alors que les milieux peptonisés et chargés en outre de 2 p. 100 d'urée en accusent 9,730 ; autrement dit, quand ce second milieu décèle 100 germes de microphytes, le premier ne peut en déceler que 83 ; d'où une différence de 17 p. 100 en faveur du milieu contenant de l'urée.

La cause de cette inégale infécondité des terrains de culture considérés doit être, vraisemblablement, mise sur le compte de l'alcalinité qu'offrent les milieux carbamidés stérilisés à 100° ; les germes atmosphériques errants et desséchés sont favorablement impressionnés par le carbonate d'ammonium qui facilite leur évolution. Nous allons voir que les bactéries adultes des eaux sont, au contraire, défavorablement impressionnées par cette même alcalinité et que les statistiques se ressentent de la causticité qu'exerce le carbonate d'ammoniaque sur les bactéries vivant et se multipliant dans les liquides.

Ces mêmes tableaux démontrent que les ferments de l'urée se rencontrent dans l'air en quantité inégale suivant les saisons de l'année : ils sont plus fréquents au printemps et en été qu'en hiver et en automne ; du reste, ils sont

soumis aux mêmes lois de variations que les germes aériens des schizomycètes vulgaires; de plus, on peut apprécier que le rapport entre ces ferments et les espèces saprophytes est sensiblement le même à toutes les saisons. Ce rapport est en moyenne égal à 67, c'est-à-dire que sur 67 germes de bactéries flottant dans l'air, susceptibles de se rajeunir dans les milieux chargés d'urée, un seul d'entre eux présente la faculté d'hydrater la carbamide, ce qui établit un taux d'environ 1,5 p. 100.

Un mètre cube d'air de Paris contient en moyenne 146 urobactéries de nature variée, soit une urobactérie par 7 litres d'air. Cette constatation permet d'expliquer pourquoi les urines, exposées à l'air libre dans des vases grandement ouverts, peuvent y séjourner un temps plus ou moins long sans subir de fermentation ammoniacale et, d'autre part, pourquoi elles finissent toujours par fermenter, si leur exposition à découvert se prolonge pendant une à deux semaines.

Qualitativement, l'examen méthodique de chaque ferment de l'urée trouvé dans l'atmosphère conduit à établir ainsi la nature des espèces urophages :

Micrococcus	58
Bacilles	31
Sarcines	11

En réunissant les sarcines aux sphérobactéries, la proportion des bacilles et des urocoques sur 100 espèces urophages recueillies devient la suivante :

Urocoques et Sarcines. .	69
Bacilles	31

Les bacilles ferments de l'urée sont donc environ deux à trois fois plus rares que les urocoques; aussi, dans les fermentations spontanées des urines stérilisées abandonnées à la chute des poussières atmosphériques, on rencontre plus souvent des micrococcus que des bacilles urophages.

Si on fait entrer en ligne de compte dans cette statistique les spores des mucédinées capables de faire fermenter l'urée, on obtient, comme chiffres respectifs des microphytes

atmosphériques susceptibles de déterminer l'hydratation de l'urée, les nombres proportionnels suivants toujours calculés pour 100 cas de fermentation ammoniacale.

Micrococcus et Sarcines .	62
Bacilles	28
Mucédinées	10

Par conséquent, parmi les germes aériens de la fermentation que nous étudions, les spores des mucédinées entrent dans la proportion de 10 p. 100, et les urobactéries dans celle de 90 p. 100.

De la répartition des ferments ammoniacaux dans les eaux. — J'ai particulièrement étudié à cet égard les eaux de sources, de rivières, de drains, de puits, d'égouts et de vidanges, que les nécessités de mon service amènent à mon laboratoire, une ou plusieurs fois la semaine. Pendant les années 1890 et 1891, tous les échantillons d'eaux qui me sont parvenus ont fait l'objet d'un double dosage : l'un avec des milieux peptonisés ordinaires, l'autre avec ces mêmes milieux chargés de 2 p. 100 d'urée. Comme les eaux de sources distribuées à la population parisienne sont surveillées avec plus de vigilance, et sont, pour ce motif, analysées tous les deux jours, tandis que les eaux de rivières, d'égouts, etc., font l'objet de dosages situés à des intervalles plus espacés, il ne m'est pas possible de donner pour ces dernières leur richesse, par saison, en ferments ammoniacaux. Je me suis contenté de calculer les chiffres moyens annuels résultant de mes analyses. Ces chiffres représentent, bien entendu, la teneur des eaux en bactéries par centimètre cube.

Teneur de l'eau de la Vanne en ferments ammoniacaux

1890	Milieux		Ferments de l'urée	Rapports
	ordinaires	carbamidés		
Hiver	710	310	5	62
Printemps	845	370	6	65
Été	1,660	1,050	14	75
Automne	1,000	475	9	53
Moyenne annuelle . .	1,055	551	8,5	65

Pour l'année 1891, les résultats ont été les suivants :

Teneur de l'eau de la Vanne en ferments ammoniacaux

1891	Milieux ordinaires	Milieux carbamidés	Ferments de l'urée	Rapports
Hiver	3,210	1,220	19	64
Printemps.	2,130	1,030	15	69
Été	755	240	3	80
Automne	1,095	430	7	81
Moyenne annuelle . .	1,800	730	11	68

d'où l'on déduit comme moyenne de deux ans :

Teneur de l'eau de la Vanne en ferments ammoniacaux

	Milieux ordinaires	Milieux carbamidés	Ferments de l'urée	Rapports
Année 1890.	1,055	551	8,5	65
Année 1891.	1,800	730	11,0	68
Moyenne générale . .	1,428	640	9,75	66

Tandis qu'avec les éléments vivants des poussières de l'atmosphère le chiffre de la statistique des germes des bactéries est plus élevé quand on se sert des milieux chargés d'urée que quand on expérimente avec les milieux ordinaires, le contraire s'observe dans l'analyse bactériologique des eaux. Dans l'eau de la Vanne puisée à la bâche d'arrivée du réservoir de Montrouge, les milieux ordinaires ont mis en évidence l'existence de 1,428 bactéries par centimètre cube, et les milieux carbamidés n'en ont décelé que 640 dans le même volume d'eau ; ce qui se traduit par une perte de 55 p. 100 du chiffre des bactéries adultes tuées ou rendues inféconces par l'alcalinité du milieu. Le rapport entre les ferments ammoniacaux et les espèces vulgaires pourrait être légitimement établi en divisant le chiffre des bactéries nées dans les milieux ordinaires par le chiffre des ferments éclos dans les milieux carbamidés ; le quotient trouvé égal à 66 deviendrait pour les eaux de la Vanne égal à 146, c'est-à-dire que sur 146 bactéries des eaux on compterait un seul ferment ammoniacal. Mais j'ai préféré ne tenir compte dans le calcul de ce rapport que des bactéries

capables de se multiplier dans les terrains nutritifs additionnés d'urée ; d'ailleurs, il est loisible à chacun de faire les calculs, que je juge inutile de reproduire ici. Quoiqu'il en soit de ces manipulations arithmétiques, remarquons que les rapports entre les organismes susceptibles de se développer dans les milieux chargés de carbamide et les ferments ammoniacaux sont, à peu près, les mêmes quand on expérimente sur les poussières de l'air et les poussières vivantes des eaux. Avec l'eau de la Dhuis, les chiffres trouvés ont été les suivants :

Teneur de l'eau de la Dhuis en ferments ammoniacaux

	Milieux		Nombre de ferments	Rapports
	ordinaires	carbamidés		
Année 1890.	1,875	625	9	70
Année 1891.	4,715	1,865	25	75
Moyenne générale. . .	3,290	1,445	17	73

Ces eaux, puisées dans l'aqueduc, avant leur entrée dans Paris, contiennent donc une quantité de ferments ammoniacaux un peu plus faible que les eaux de la Vanne. La présence des bactéries urophages ne saurait être en général invoquée contre la potabilité des eaux. En effet, ces ferments figurés se rencontrent dans les eaux de sources les plus pures, éloignées des causes habituelles de contamination (fumiers, fosses d'aisance, etc.), ils sont originaires du sol, qui en renferme toujours une très grande quantité. Cependant, je n'hésiterais pas à déclarer comme suspecte une eau dont le chiffre des ferments de l'urée s'élèverait à des proportions anormales, et dépasserait 2 p. 100. Alors on pourrait craindre, avec raison, que les eaux trop chargées de bactéries urophages n'aient reçu directement en quantité notable, des liquides animaux en fermentation : des urines, des purins, des liquides de fosses d'aisance, et avec ces ferments des microbes de l'intestin. La démonstration de ce genre de contamination nous est d'ailleurs fournie par les résultats de l'analyse de l'eau de la Seine prélevée en amont et dans l'intérieur de Paris.

A Ivry, les résultats obtenus ont été les suivants :

Teneur des eaux de la Seine à Ivry en ferments ammoniacaux

	Milieux ordinaires	Milieux carbamidés	Ferments de l'urée	Rapport 10
Année 1890	47,400	22,100	216	97
» 1891	104,000	39,800	420	95
Moyenne générale . .	75,700	30,950	318	97

La moyenne fournie par les analyses de l'eau de la Seine puisée au voisinage du Pont d'Austerlitz et du pont de l'Alma s'écarte notablement des moyennes précédentes.

Teneur de la Seine au pont d'Austerlitz et de l'Alma en ferments ammoniacaux

	Milieux ordinaires	Milieux carbamidés	Ferments de l'urée	Rapport
Année 1890	78,000	44,100	800	55
» 1891	125,000	77,000	1,650	47
Moyenne générale . .	101,508	60,550	1,222	49

Ainsi, dans son parcours à travers Paris, l'eau de la Seine se charge manifestement d'un nombre à peu près double de ferments ammoniacaux, évidemment dus, ici, aux impuretés que reçoit ce fleuve doublement souillé par les eaux d'égouts de la Cité et par les eaux d'essangeage des bateaux-lavoirs. Aujourd'hui, il n'existe plus d'égouts se déversant directement à la Seine, mais, à l'époque où ces expériences ont été faites, cela avait encore malheureusement lieu. Les bateaux-lavoirs, au contraire, restent toujours, et l'on doit ardemment souhaiter de les voir disparaître à leur tour.

L'eau de la Marne prélevée à l'usine élévatoire de Saint-Maur renferme très sensiblement plus d'espèces urophages que l'eau de la Seine à Ivry, mais moins que la même eau puisée à Chaillot.

Teneur des eaux de la Marne en ferments ammoniacaux

	Milieux		Nombre de ferments	Rapport
	ordinaires	carbamidés		
Année 1890.	36,300	14,600	220	53
Année 1891.	58,540	37,800	580	65
Moyenne générale . .	47,425	24,700	400	62

Quant à l'eau du canal de l'Ourcq, prélevée à la gare circulaire de la Villette, et qui sert de véhicule à une foule d'impuretés : aux eaux résiduaires de certaines industries, aux déjections de toute nature de la population des bateliers qui y naviguent, parfois de dépotoir aux tonnes de vidanges, le nombre des espèces urophages s'y rencontre dans une proportion élevée. Sur 42 bactéries vulgaires, une d'entre elles se montre capable de décomposer l'urée.

Teneur de l'eau de l'Ourcq en ferments ammoniacaux

	Milieux		Nombre de ferments	Rapport
	ordinaires	carbamidés		
Année 1890.	53,330	18,000	418	43
Année 1891.	74,545	33,300	810	41
Moyenne générale . .	63,933	25,650	614	42

Avant d'exposer les résultats qu'ont fournis durant les mêmes années les eaux sales d'égouts et de vidanges, je tiens à publier les chiffres qui résultent des analyses effectuées avec quelques eaux pouvant être considérées comme faisant partie de la nappe d'eau souterraine : les eaux de drains et de puits :

1° L'eau du Drain de Saint-Maur, résultant de l'épuration des eaux de la Marne, par une tranchée comblée de matériaux filtrants ;

2° Les eaux des 4 drains de Gennevilliers, qui ramènent à la Seine l'eau d'égout épurée par le sol de cette commune ;

3° Les eaux de puits de Paris et de la banlieue parisienne.

Je représente par une seule moyenne les résultats obtenus pendant les années 1890 et 1891.

Teneur des eaux de Drains et de Puits en ferments ammoniacaux

1890-1891	Milieux ordinaires	Milieux carbamidés	Nombre de ferments	Rapports
Drain de Saint-Maur. .	2,180	828	16	52
Drain de Gennevilliers.	21,800	9,440	145	65
Eaux de puits	54,000	21,500	510	42

L'eau du drain de Saint-Maur présente environ 2 p. 100 d'espèces urophages, plus que l'eau de la Marne, mais dans une proportion voisine de celle que les analyses quantitatives et qualitatives décèlent dans les eaux de la Seine. Il en est de même des eaux des drains de la presqu'île de Gennevilliers, qu'on trouve encore plus pauvres en ferments ammoniacaux ; cependant on verra, un peu plus bas, que les eaux des collecteurs accusent 5 p. 100 d'espèces urophages : donc, le sol retient très aisément ces bactéries spéciales, et n'en laisse passer, si passage il y a, qu'une quantité exactement pareille à celle qui se rencontre dans les eaux de la Vanne, c'est-à-dire 1,5 p. 100.

La richesse des eaux de puits en ferments de l'urée nous apparaît exactement égale à celle de l'eau du canal de l'Ourcq ; cela ne saurait surprendre, car la plupart des eaux de puits analysées par mon laboratoire sont très riches en toute espèce de bactéries, et contaminées d'une façon indubitable par les liquides des fosses d'aisance et les fumiers.

Les eaux qui nous restent à étudier sont ordinairement très chargées d'espèces urophages, elles sont d'ailleurs appelées à recevoir les urines et les matériaux corrompus ou usés de la population et des animaux vivant dans Paris. Non seulement elles sont destinées à servir de véhicule à l'urée, mais à fermenter elles-mêmes sous l'influence des agents de la biogénèse ammoniacale : ce sont, on le devine aisément, les eaux d'égouts et de vidanges.

Les eaux d'égouts des grands collecteurs de Clichy et de Saint-Ouen, charrient en moyenne 5 p. 100 d'urobac-

téries, ainsi qu'il découle des expériences poursuivies pendant 2 ans dans mon laboratoire.

Teneur des eaux d'Égouts en ferments ammoniacaux

	Milieux		Nombre de ferments	Rapports
	ordinaires	carbamidés		
1890.	16,850,000	10,940,000	605,000	18
1891.	22,585,000	16,380,000	800,000	20
Moyenne générale. .	19,700,000	13,660,000	702,500	19

Les eaux d'égouts contiennent près d'un million de ferments ammoniacaux par centimètre cube; c'est dans ces eaux qu'on devra de préférence rechercher les diverses espèces urophages qui s'y trouvent toujours très variées.

Enfin, les eaux de vidanges prélevées dans la conduite du refoulement du dépotoir de l'Est sont encore plus riches en ferments figurés de l'urée que les eaux d'égouts des grands collecteurs; on les y rencontre sous le chiffre moyen de 4,000,000 par centimètre cube. Ces eaux noirâtres, boueuses et sulfhydriques accusent 6 à 7 ferments par 100 schizophytes décelés par les milieux de cultures.

Teneur des eaux de Vidange en ferments ammoniacaux (1890-91)

Bactéries décelées par les milieux de culture ordinaires	40,600,000
» » carbamidés.	61,000,000
Nombre de ferments.	4,100,000
Rapport	15

Un fait assez singulier s'observe dans les chiffres précédents; tandis que dans les milieux peptonisés le chiffre des bactéries écloses s'élève à 40,000,000 par centimètre cube, le nombre des bactéries accusées par les milieux chargés de 2 p. 100 d'urée s'élève à 61,000,000 pour le même volume de liquide; pourtant, nous venons de voir que les milieux carbamidés se montraient à l'égard des bactéries des eaux considérées jusqu'ici moins favorables que les milieux ordinaires. J'attribue cette anomalie au chiffre relativement peu élevé des organismes adultes vivant dans les eaux de vidanges fermentées des fosses

fixes. En effet, la plupart des bactéries qu'on y rencontre ont cessé de vivre, et s'y trouvent surtout à l'état de germes, soit parce que l'évolution des microbes a cessé naturellement sous l'influence du sulfhydrate d'ammoniaque produit, soit que d'autres subtances toxiques aient hâté leur immobilisation. Ayant déjà fait observer que les germes se développent facilement dans les milieux alcalins, l'anomalie inscrite dans le tableau précédent trouve ainsi sa justification. On peut encore supposer que les bactéries qui trouvent dans les eaux de vidanges un milieu très favorable à leur développement à cause de la forte alcalinité dont elles sont toujours pourvues, acquièrent la prépondérance sur les bactéries vulgaires ; cette hypothèse est également admissible.

Les eaux résiduaires des fosses traitées par l'industrie, pour en retirer l'azote sous la forme d'ammoniaque, possèdent, au sortir des colonnes de distillation, une teneur en germes égale en moyenne à 120,000 bactéries par centimètre cube, capables de se rajeunir avec une égale facilité dans les milieux chargés ou non de carbamide. Sur 100 espèces rajeunies, appartenant pour la plupart à la tribu des bacilles, on compte seulement 2 à 3 p. 100 de ferments ammoniacaux de forme bacillaire.

Pour résumer ces études statistiques, je groupe dans le tableau suivant la richesse très variable en urobactéries de diverses eaux que j'ai eu l'occasion d'analyser fréquemment.

Teneur des eaux de Paris en espèces urophages

EAUX DE SOURCE

Eau de la Vanne, teneur pour 100 en ferments de l'urée. . .	1,56
» Dhuis.	1,37

EAUX DE RIVIÈRE

Seine en amont de Paris, teneur pour 100 en ferments de l'urée.	1,03
Seine dans Paris.	2,04
Marne à Saint-Maur.	1,61

EAUX DE CANAL

Canal de l'Ourcq, teneur pour 100 en ferments de l'urée.	2,40

EAUX DE DRAINS ET DE PUITS

Drain de Saint-Maur, teneur pour 100 en ferment de l'urée 1,92
Drain de Gennevilliers. 1,54
Puits du département de la Seine. 2,40

EAUX D'ÉGOUT

Collecteurs de Clichy et Saint-Ouen, teneur pour 100 en ferments de l'urée. 5,26

EAUX DE VIDANGES

Eaux de refoulement du dépotoir de l'Est, teneur pour 100 en ferments de l'urée. 6,66

Il suffit de jeter un coup d'œil sur ces chiffres pour se convaincre que la richesse *relative* des eaux en ferments ammoniacaux augmente avec leur degré d'impureté microscopique; d'autre part que les eaux de sources comme celles de la Vanne, rangées parmi les eaux les plus potables, peuvent renfermer de 1 à 2 p. 100 d'espèces urophages. Les microorganismes ferments figurés de l'urée n'ont point d'action nocive sur l'économie animale, cela résulte autant des observations qu'on a pu faire sur la parfaite innocuité des eaux de la Vanne alimentant la population parisienne depuis 20 ans, que des expériences que j'ai pratiqué sur les animaux avec les cultures pures des urobactéries. L'inoculation de ces espèces n'a jamais été suivie d'accidents graves, et l'ingestion pendant des mois entiers d'aliments chargés des urobacilles les plus actifs n'a pu produire de troubles appréciables tant sur l'homme que sur l'animal (1).

Quant aux ferments de l'urée répandus dans les eaux ils diffèrent peu de ceux que l'on trouve dans l'atmosphère. Les eaux sont ordinairement chargées d'une grande variété d'espèces urophages; les sarcines y sont plus rares que dans l'air; en revanche, les bacilles s'y ren-

(1) Durant le mois de janvier de l'année 1880, j'ai pris tous les jours, après le repas du matin, 2 centimètres cubes d'une culture pure de l'*Urobacillus Duclauxii* développé dans du bouillon chargé de 2 p. 100 de gélatine et de 2 p. 100 d'urée; ce liquide était ingéré après après avoir été étendu de 19 fois son poids d'eau stérilisée. Jamais je n'ai ressenti le moindre trouble digestif, et mes urines n'ont jamais cessé d'être normalement acides.

contrent plus fréquemment qu'au sein des poussières atmosphériques.

Micrococcus	58
Bacilles	51
Sarcines	1
Mucédinées	0

Les mucédinées, ferments de l'urée, font défaut dans les eaux, ou du moins pour arriver à y rencontrer ces cryptogames urophages, il faut opérer sur des quantités de liquide inusitées dans les dosages bactériologiques. En opérant sur des volumes d'eau considérables, on trouve alors que le rapport entre les mucédinées capables d'hydrater l'urée et les bactéries jouissant de cette même faculté est inférieur à 1 : 1,000.

Urobactéries du sol. — Le sol, habituellement si riche en bactéries de toute espèce, renferme également de nombreuses urobactéries. Dans les terres arables, les espèces urophages varient de 1 à 2 p. 100. Lorsque les prélèvements ont lieu à la surface du sol ou à une dizaine de centimètres de profondeur, on y trouve une forte proportion d'urocoques mélangés aux bacilles subtiles, aux Cladothrix, aux Streptothrix; etc... A mesure qu'on s'éloigne de la surface en gagnant la profondeur, les urocoques tendent à disparaître et sont remplacés par les urobacilles qui peuvent encore se rencontrer à 2 mètres de profondeur.

Les ferments ammoniacaux abondent généralement au sein de la boue des rues et de la vase des ruisseaux, mais ils s'y trouvent distribués d'une façon très inégale : dans quelques échantillons de terre vaseuse prise dans les interstices du pavage des ruisseaux conduisant à découvert à l'égout les eaux menagères, j'ai pu constater jusqu'à la présence de 200,000 urobactéries par gramme de matière desséchée à 100° ; dans d'autres cas où les ruisseaux servaient à évacuer des eaux industrielles et des eaux de bains publics, je n'ai pu en compter plus de 1,000 pour le même poids de vase; enfin, dans les fumiers et les purins des vacheries, les ferments de l'urée sont en quantité innombrable, ils peuvent atteindre 10 et 15 p. 100 du nombre des espèces comptées.

Bref, il résulte des recherches statistiques qui viennent d'être exposées que les ferments figurés de la carbamide sont suffisamment répandus dans la nature pour assurer, partout et toujours, le dédoublement de l'urée en deux éléments profitables à l'agriculture : en carbone et azote. En dehors de ce rôle, quelques-uns de ces ferments semblent en présenter un des plus importants, celui de détruire la molécule complexe des substances albuminoïdes par l'action d'une hydratation beaucoup plus énergique, qui n'a pas encore été étudiée.

§ IV. — **Ferment soluble de l'urée**

Historique

En 1876 (1), M. Musculus, à qui l'on doit des travaux si remarquables en chimie, annonça l'existence, dans les urines filantes et ammoniacales rendues par certains malades, d'un ferment soluble, capable de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque en l'absence de ferments figurés. Antérieurement, le même auteur avait décrit la préparation d'un papier réactif pour reconnaître l'urée qu'il préparait en jetant les urines devenues ammoniacales sur un filtre qu'il *lavait* ensuite à l'eau et colorait par le curcuma. Ce papier séché pouvait se conserver longtemps ; plongé dans une solution très étendue d'urée, il brunissait sous l'influence du carbonate d'ammonium produit par le ferment soluble de la carbamide.

D'après M. Musculus, ce ferment peut s'obtenir en précipitant par l'alcool les urines filantes et ammoniacales ; on recueille le mucus coagulé constituant le ferment, qui, une fois lavé et séché, se conserve sans perdre son pouvoir hydratant.

Ce mucus est soluble dans l'eau, et sa solution filtrée fait

---

(1) Musculus. — *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. LXXXII, page 333.

fermenter rapidement l'urée. Il est précipitable par l'alcool ; le chlorure de sodium ne le précipite pas ; l'ébullition ne le coagule pas mais l'altère. Les acides détruisent rapidement son activité comme ferment. Une solution de mucus additionnée de 1 p. 1000 d'acide chlorhydrique, puis neutralisée, est inactive après 10 à 15 minutes de contact ; les acides tartrique, acétique, la rendent également sans effet ; l'acide phénique et les alcalis ne détruisent pas cette activité ; les alcalis, toutefois, entravent son action ; enfin une température de 80° l'anéantit complètement.

On voit, ajoute M. Musculus, que le ferment de l'urée n'est pas un ferment organisé mais un ferment soluble se rapprochant de la diastase, de la ptyaline et du suc gastrique.

M. Musculus avait certainement tort, à cette époque, de refuser aux bactéries la faculté d'hydrater l'urée, et de rapporter uniquement la cause de la fermentation ammoniacale à un mucus vésical. Mais il faut reconnaître qu'il a eu en sa possession des solutions de ferment soluble de l'urée, et cela dans des conditions très heureuses d'expérimentation, puisque personne après lui n'a pu mettre de nouveau la main sur ce ferment soluble. Etablissons, tout d'abord, que M. Musculus n'a jamais préparé artificiellement le ferment de l'urée, il l'a trouvé dans les urines de certains malades ; il se trompe même quand il croit que le mucus vésical, rendu avec les urines, constitue ce ferment ; en un mot, il a su simplement tirer, grâce à son habileté, un parti très avantageux des quantités de ferment qu'il a pu accidentellement recueillir.

Quant à moi, je suis resté plusieurs années sans pouvoir parvenir à mettre en évidence le ferment signalé pour la première fois par ce savant chimiste. Je vais rapporter ici quelques-unes des expériences négatives qui, en 1888, me faisaient encore douter de l'existence de l'urase :

« Jusqu'ici je dois avouer que tous mes efforts pour isoler cette substance et même rendre son existence indubitable ont été vains. Jamais je n'ai pu obtenir des traces du ferment soluble de l'urée ou constater sa présence qu'elle qu'ait été la multiplicité de mes recherches sur ce point, et les soins dont je les ai entourées. Je dois donc avouer que

l'isolement de ce ferment, même à l'état brut, présente de très grandes difficultés, et demande des tours de main peu connus des personnes qui ont consacré plusieurs années de leur existence aux recherches délicates de la chimie organique.

« Il résulterait pourtant de la note de M. Musculus que le ferment soluble de l'urée est très facile à obtenir. Mes expériences ont été à cet égard fort nombreuses : elles ont été pratiquées avec des urines devenues ammoniacales sous l'influence des ferments les plus divers, avec des urines filantes, et l'urase s'est dérobée constamment à mes investigations. Quand j'ai cru l'avoir rencontrée, le microscope m'a démontré que j'étais victime d'une illusion, et que mes liqueurs étaient peuplées d'organismes figurés, agents de la fermentation ammoniacale.

Premier groupe d'expériences

« Plusieurs urines fermentées, débarrassées de leurs dépôts par décantation, sont précipitées par trois fois leur volume d'alcool absolu. Ce précipité recueilli, desséché à 35°, est introduit dans une solution d'urée dans l'eau distillée, et la solution est placée à 30°. Au bout de 3 heures d'attente, il n'y a pas trace d'urée disparue ; au bout de 24 heures, la liqueur est devenue fortement ammoniacale et se montre envahie par des bactéries urophages. »

Nous allons voir, plus loin, que le fait d'ajouter 3 volumes d'alcool absolu à des urines fraîchement fermentées suffisait à lui seul pour détruire tout le ferment soluble de l'urée, si réellement il en existait dans les urines soumises à l'expérience.

Deuxième groupe d'expériences

« De nouvelles urines visqueuses et fortement ammoniacales sont filtrées, puis évaporées à 35° dans des vases de porcelaine très plats. Le liquide réduit à 1/5 du volume primitif est précipité par de l'alcool absolu ; puis la matière gluante et abondante résultant de cette opération est desséchée sur des filtres à la température ordinaire et, enfin, redissoute dans de l'eau chargée de 2 p. 100 d'urée. Ici encore, au bout d'une exposition de 3 heures à l'étuve à 30°, il ne fut pas possible de constater les plus faibles traces d'ammo-

niaque ; par contre, au bout de 24 heures, toute l'urée avait disparu, et de nombreuses bactéries sillonnaient le liquide. »

Deux causes de destruction du ferment peuvent être aujourd'hui reconnues dans ce deuxième groupe d'expériences : d'abord, la concentration des urines à l'air libre, et ensuite le traitement par l'alcool.

Troisième groupe d'expériences

« De nouveaux liquides fermentés, évaporés à 15° dans le vide, ne donnèrent pas davantage de traces d'urase.

« Quant aux dépôts que fournissent les urines traitées par l'alcool, ils sont très abondants, de nature très variée ; j'ai pris soin de les recueillir séparément au fur et à mesure de leur production au sein des liquides rendus de plus en plus alcooliques.

« Les premiers précipités renferment surtout des sels ammoniacaux et du chlorure de sodium. En continuant la précipitation, on obtient des substances plastiques, d'abord peu colorées, puis très colorées et presque noirâtres, et enfin des matières extractives gommeuses. Tous ces précipités sont redissolubles dans l'eau. J'ai pris la précaution de faire agir séparément sur l'urée dissoute dans l'eau distillée les substances résultant de ces précipitations fractionnées, et aucune d'entre elles n'a donné du carbonate d'ammoniaque au contact de l'urée. »

Ici comme précédemment, les manipulations opérées à l'air libre et la précipitation par l'alcool ne pouvaient qu'activer la destruction du corps que je désirais isoler.

Quatrième groupe d'expériences

« On aurait pu supposer, contrairement à ce qui s'observe avec les ferments solubles, que l'urase fut incapable d'agir dans un temps très court, et demanda pour manifester son action de plusieurs heures à quelques jours. Bien que ce fait soit en opposition formelle avec ce qu'on connaît sur les ferments solubles, et s'accorde mal avec la promptitude d'action de plusieurs ferments figurés, j'ai cru devoir pratiquer quelques expériences directes pour contrôler cette supposition.

« Plusieurs urines normales et artificielles, totalement fermentées, furent débarrassées par filtration à froid de tout germe, et ces urines, additionnées d'une solution d'urée également stérilisée, furent laissées à 30° pendant plusieurs jours. Ici, encore, on ne put constater la moindre disparition d'urée. »

Dans ce dernier groupe d'expériences comme dans les précédents, j'imaginais gratuitement, sur la foi des expériences de M. Musculus, que le ferment soluble de l'urée abondait dans les urines fermentées ; or, c'est là l'exception, la règle générale est l'absence de ce ferment soluble dans les urines devenues ammoniacales, à moins que ces dernières n'aient été fortement nutritifiées par des substances albuminoïdes, qui ne se rencontrent pas dans les urines normales.

Cinquième groupe d'expériences

« Je traitai pareillement par l'alcool le bouillon de peptone où j'avais fait végéter, en l'absence de l'urée, les organismes hydratants les plus puissants, avec la pensée que le ferment soluble de l'urée, n'ayant pu être utilisé, devait se trouver en grande abondance. Ces bouillons donnèrent des précipités formés surtout par de la peptone, des sels divers, et se montrèrent inactifs envers la carbamide. »

Dans ces expériences, l'alcool joue toujours un rôle néfaste, en détruisant le ferment soluble qu'on était en droit de croire au sein des précipités.

Sixième groupe d'expériences

« Les bouillons altérés par des ferments ammoniacaux figurés furent encore filtrés à la bougie Chamberland et additionnés d'urée pure stérilisée. Dans ce cas comme dans les précédents, l'urée ne fut pas touchée, et il ne se produisit pas de traces appréciables de carbonate d'ammonium. »

« Je suis donc arrivé pour ma part, disais-je alors, à cette conclusion, que le ferment soluble qui dédouble l'urée en acide carbonique et ammoniaque est non seulement difficile à isoler, mais encore difficile à mettre en évidence, au moins dans les conditions habituelles de la fermentation ammoniacale ; que sa sécrétion par les schizophytes ferments de l'urée est loin d'être démontrée ; que le mode d'action des agents de la fermentation ammoniacale reste encore à découvrir. »

Ces insuccès répétés justifiaient certainement une semblable conclusion, mais ils n'avaient d'autre valeur que celle qui s'attache aux expériences négatives, qui ne résolvent rien, n'éclairent rien, et laissent les problèmes entourés d'ombres encore plus épaisses qu'auparavant. Leube n'avait pas été plus heureux que moi dans ses recherches pour isoler le ferment soluble de l'urée, et ceux des savants qui avaient abordé cette question étaient également arrivés à des résultats négatifs :

Quatre ou cinq fois dans l'espace de dix ans, j'entrepris de résoudre cette question difficile, sans me laisser rebuter par des échecs répétés, et je dois attribuer sans doute à cette persévérance d'avoir pu atteindre le but désiré : c'est-à-dire d'être arrivé à préparer en quantité quelconque l'urase, qui auparavant se dérobait à mes investigations.

Il faut donc reconnaître que M. Musculus ne s'était pas trompé, et qu'en dehors des interprétations assurément inexactes, qui ont accompagné ses notes sur ce ferment, il lui revient l'honneur d'avoir le premier découvert et signalé l'existence du ferment soluble de l'urée.

(*A suivre.*)

REVUES ET ANALYSES(1)

A. Korotneff. — **Myxosporidium Bryozoïdes** (*Zeitschrift für Wiss. Zoologie*, Bd. LIII, Heft. IV, 1892, avec 1 planche.

En étudiant un Bryozoaire d'eau douce, l'*Alcyonella fungosa*, M. Korotneff a rencontré un parasite qui se présente sous forme de masses amiboïdes et doit être rapporté aux Myxosporidies.

Le volume de ces masses est variable, elles peuvent mesurer de $0^{mm},02$ à $0^{mm},2$ de diamètre; les plus petites sont ordinairement arrondies, les plus grosses sont ovales ou lobées. Elles n'ont point de membrane d'enveloppe et présentent des mouvements amiboïdes ; on y distingue un Ectosarc transparent et hyalin, et un Endosarc très granuleux. L'Ectosarc seul entre dans la composition des pseudopodes.

Dans l'Ectosarc on observe des noyaux et des spores. Les premiers renferment un nucléole, et auprès de celui-ci un corspuscule brillant de nature indéterminée. Ces noyaux sont entourés d'une zone claire ressemblant à une vacuole. Les spores ont la forme d'un ovale allongé ; l'une des extrémités est effilée, l'autre arrondie. Leur enveloppe est réfringente, l'auteur n'a pas constaté l'existence de deux valves ; à l'intérieur il a vu souvent deux vacuoles ; quelquefois, à l'extrémité de la spore, il a observé un point brillant qui est peut-être une capsule à filament analogue à celle des autres spores de Myxosporidies. M. Korotneff n'a pas suivi le développement des spores.

Au début de son développement, le parasite est renfermé dans les spermatoblastes ; mais à ce stade l'auteur n'a pu distinguer que son noyau, et le plasma semble intimement mélangé à celui de la cellule-hôte. Puis on voit ce noyau se diviser par karyokinèse. Le noyau du spermatoblaste ne tarde pas à se diviser également, mais cette division n'est pas accompagnée de phénomènes mitosiques, c'est plutôt une sorte de fragmentation. D'ailleurs les noyaux nés de cette division ne sont pas normaux, mais plus ou moins atrophiés ; finalement, on a un plasmodium parasitaire, renfermant encore quelques débris des noyaux atrophiés du spermatoblaste, puis

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront anonncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

ceux-ci disparaissent, et on observe la Myxosporidie avec les caractères indiqués plus haut.

Cette observation du savant professeur Kiew, malgré les lacunes qu'elle présente est fort intéressante. Outre les faits qui se rapportent au parasite lui-même, la découverte de Myxosporidies dans les Bryozoaires constitue un fait important pour l'histoire de ces organismes qui n'ont encore été observés que rarement en dehors des Poissons, qui sont, comme on le sait, leurs hôtes ordinaires.

T.

Dr Max Dahmen. — De la gélatine comme cause de l'obtention de résultats négatifs dans la recherche du bacille cholérique dans les fèces.

En faisant des plaques du vibrion cholérique avec des gélatines de degrés d'alcalinité divers, l'auteur remarqua que les dimensions des colonies cholériques augmentaient avec l'alcalinité du terrain. Leur nombre restait le même ; mais, tandis que sur une gélatine contenant seulement 0,05 de soude, elles restaient presque invisibles, leurs proportions et l'intensité de la liquéfaction augmentaient dès que la gélatine contenait 0,2 p. 100 de soude ; les plus belles colonies se voyaient sur les plaques faites avec de la gélatine chargée de 1 p. 100 de soude. A partir de 1,5 p. 100, les colonies diminuent de nouveau de grosseur. Il ressort de ceci : qu'un terrain très faiblement alcalin est peu propice pour rechercher le bacille cholérique dans les fèces, et l'emploi de gélatines faiblement alcalines, telles que les recommandent généralement les traités de bactériologie, serait probablement la cause des résultats négatifs auxquels se sont heurtés de nombreux expérimentateurs dans les épidémies cholériques. Pour la recherche du bacille cholérique, M. Dahmen recommande donc d'employer une gélatine à laquelle on ajoute, après l'avoir d'abord ramenée à une neutralisation parfaite, 1 p. 100 de soude. Ce degré considérable d'alcalinité s'opposant, en outre, au développement d'un grand nombre de bactéries, la recherche du bacille cholérique dans les fèces deviendrait ainsi beaucoup plus facile.

E. F.

J. Forster. — Du développement des bactéries à de basses températures (*Centralblatt für Bakteriologie*, XII, p. 431).

M. J. Forster a décrit, en 1887, déjà, une bactérie phosphorescente, douée, en outre, du singulier pouvoir de croître à la température de 0°. Depuis, M. Fischer a montré que plusieurs espèces

bactériennes trouvées dans le port de Kiel présentaient la même particularité. Aidé de M. Bleckrode, M. Forster a repris ses recherches sur les bactéries capables de croître à ces basses températures, et il montre dans le présent mémoire que ce fait est loin d'être aussi rare qu'on aurait pu le croire. Il est vrai que le nombre des espèces bactériennes se développant à cette température de 0° est assez restreint, mais elles sont, par contre, très répandues, même dans les substances alimentaires. Voici quelques chiffres cités par l'auteur :

Dans 1 centimètre cube d'eau de canal: jusqu'à 2,000 ;

Dans de l'eau de canaux servant à l'irrigation de prairies: quantités innombrables ;

Dans 1 centimètre cube de lait pris sur le marché: jusqu'à 1,000;

Dans 1 gramme de terre de jardin : jusqu'à 140,000 ;

Dans de la poussière des rues: quantités innombrables.

On les trouve également en grand nombre à la surface de poissons d'eau douce et de mer, et à l'intérieur de leur canal intestinal, de même que dans l'eau de mer (mer du Nord, Zuiderzée).

Ces faits curieux expliquent peut-être pourquoi les aliments conservés dans des glacières prennent souvent au bout de quelques jours un goût et une odeur désagréables. Retirés de la glacière, les aliments se gâtent aussi très vite, probablement parce que les bactéries, ayant beaucoup augmenté de nombre pendant le séjour à la glacière, sont devenues assez nombreuses pour amener une décomposition rapide dès qu'elles se trouvent dans des conditions de croissance encore plus favorables. M. Forster montre, en effet, par des cultures sur plaques, que dans de la viande tenue à 0°, le chiffre des microbes augmente sensiblement, de même que la teneur en ammoniaque. A cet égard, un séjour dans la glacière de 16 jours donne le même résultat qu'un séjour de 6 à 7 jours dans une cave de 7 à 9°, ou de 2 jours à la température de la chambre. Ainsi, après 12 jours à 0°, 2 à 3 milligrammes de viande ensemencés dans des plaques de gélatine donnèrent naissance à d'innombrables colonies.

Pour empêcher tout développement de bactéries, il faut donc ou bien employer des températures plus basses, encore faudrait-il d'abord, ce que M. Forster n'a pas encore pu faire jusqu'ici, déterminer la limite à laquelle leur prolifération devient impossible, ou bien faire concourir d'autres facteurs avec l'action du froid. La sécheresse joue ici un rôle prépondérant, et M. Forster a pu constater une absence presque complète de croissance dans un air froid et sec en même temps. Les appareils réfrigérants devront donc être construits de façon à être en même temps très pauvres en vapeur d'eau. C'est un résultat que permettent d'obtenir divers appareils employés de nos jours par l'industrie (production du froid par la compression et l'expansion de l'air).

Les faits mis en lumière par M. Forster ont aussi leur importance pour les analyses d'eaux. Quand l'analyse ne peut se faire sur place, on en ordonne habituellement le transport dans la glace. Il faudra donc, à l'avenir, compter avec un accroissement possible du nombre originaire des bactéries contenues dans l'eau à analyser, et on fera bien, par conséquent, de faire effectuer le transport aussi rapidement que possible, quand l'analyse ne pourra être faite sur place.

E. F.

R. Koch. — **De l'état actuel du diagnostic bactériologique du choléra** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIV, p. 319).

La dernière épidémie cholérique de Hambourg a été pour les bactériologistes une source féconde d'observations nouvelles sur le bacille virgule qui ont eu pour résultat d'introduire de nouveaux perfectionnements dans les méthodes d'investigation ayant pour but de déceler la présence de ce microorganisme soit dans les selles des malades, soit dans les eaux suspectes. M. Koch, avec sa compétence habituelle, vient de résumer les résultats de ces travaux récents, travaux qui, ainsi qu'on le verra, ont une grande importance pratique pour les bactériologistes auxquels pourrait incomber la tâche de faire le diagnostic bactériologique d'un cas de choléra.

Les procédés reconnus comme les meilleurs lors de la dernière épidémie sont, d'après M. Koch, les suivants :

Examen microscopique. — Celui-ci permet, dans certains cas, de poser d'emblée le diagnostic de choléra, avant même que la culture ait donné une certitude absolue. Fréquemment, le bacille virgule se trouve dans l'intestin à l'état pour ainsi dire de culture pure, ou bien associé au *Bacterium coli*. Dans les préparations faites surtout avec les flocons muqueux de l'intestin, on voit les bactéries du choléra réunies en groupes caractéristiques, en particulier aux endroits où le mucus a été étiré en filaments. Elles sont disposées en petits amas dans lesquels les bacilles sont tous orientés dans le même sens et produisent ainsi l'impression de poissons nageant à la file dans un lent courant d'eau.

Dans ce cas, le diagnostic du choléra s'imposerait. Même en l'absence de cette disposition caractéristique des bacilles, on pourrait également, d'après M. Koch, être sûr d'avoir affaire au choléra asiatique lorsqu'on constate la présence de nombreux microbes ayant l'apparence des bacilles cholériques, mélangés *uniquement* au *Bacterium coli*. Le diagnostic microscopique ne deviendrait incertain que lorsque le mélange des bactéries deviendrait plus compliqué.

En moyenne, un diagnostic microscopique certain pourrait être fait ainsi dans 50 p. 100 des cas.

Cultures dans des solutions de peptone et cultures sur plaques de gélatine. — A côté de l'examen microscopique on doit toujours recourir aux procédés de culture pour établir avec une certitude absolue la présence du bacille virgule. Pour faciliter sa recherche, on ensemence quelques flocons muqueux ou quelques gouttes des déjections dans une solution de peptone très alcaline à 1 p. 100 et additionnée de chlorure de sodium à 1 p. 100.

Dans ce milieu les bactéries du choléra augmentent rapidement de nombre à 37° et se tiennent, étant très aérobies, à la surface. Au bout de 6 à 12 heures, quand l'examen d'une goutte prise à la surface montre des bacilles virgules, on fait des cultures sur plaques de gélatine avec le liquide de la surface (les 3 dilutions habituelles). L'augmentation du nombre des bacilles cholériques permet ainsi de déceler leur présence même dans les cas où les plaques ensemencées directement avec les déjections en contiendraient si peu que leur constatation ne réussirait pas. La gélatine doit également être alcaline, et les plaques tenues à 22° environ, c'est-à-dire à la température la plus élevée que supporte la gélatine à 10 p. 100 sans se liquéfier, afin de hâter le développement des colonies.

En même temps que l'on fait les cultures de peptone, on fait, dans tous les cas, des cultures sur plaques de gélatine avec les déjections originales. Souvent, les colonies caractéristiques apparaissent sur ces premières plaques en 15-20 heures. Le diagnostic est alors d'autant plus rapide. Si celles-ci ne donnent pas de colonies, on a la ressource des plaques faites avec la solution de peptone ensemencée, que l'on examine de 6 à 12 heures plus tard (temps d'incubation de la solution du peptone). Dans ce cas, le diagnostic peut donc être posé dans un délai encore très court, généralement en 26 heures. Nous ne rappelons pas ici l'aspect des colonies cholériques sur gélatine, si connu de tous les bactériologistes. Un développement atypique est très rare ; dans ce cas, les autres moyens d'investigation permettent de lever les doutes.

Cultures sur plaques d'agar. — Sur agar, les colonies du bacille virgule sont moins caractéristiques. Cependant, un œil exercé peut les distinguer assez sûrement. A la *surface* de l'agar, ils forment des colonies de dimensions moyennes, transparentes et d'une couleur gris brunâtre clair particulière. L'avantage des cultures sur agar est de fournir, grâce à la température de 37° à laquelle on peut les tenir, des colonies cholériques déjà après 8 à 10 heures. Ces colonies n'étant caractéristiques qu'à la surface, il faut verser l'agar liquéfié dans des boîtes de Pétri, et ne l'ensemencer qu'après solidification, en frottant la surface avec l'anse de platine. L'agar ayant une tendance, en se solidifiant, à se recouvrir d'une fine couche de liquide gênant pour le développement de colonies isolées,

on fait bien de préparer de ces boîtes à l'avance et de les tenir pendant quelques jours à l'étuve, pour que le liquide s'évapore. Les cultures sur agar, après avoir été examinées au microscope, peuvent servir à ensemencer une solution de peptone pour obtenir la réaction au rouge du choléra, ou pour des expériences sur les animaux.

Réaction du rouge du choléra. — La réaction du rouge du choléra trouvée par Bujwid et Dunham est bien connue. Elle consiste dans l'apparition d'une coloration rouge lorsqu'on ajoute de l'acide sulfurique à des cultures cholériques qui contiennent de l'indol et de l'acide azoteux. D'autres bactéries produisent aussi de l'indol ; d'autres encore peuvent réduire l'acide azotique à l'état d'acide azoteux. Peut-être existe-t-il aussi des microbes qui ont ces deux particularités en commun avec les bacilles cholériques. Mais il est certain qu'aucun des bacilles courbes connus jusqu'ici et qui pourraient être confondus, au point de vue morphologique, avec les bacilles du choléra ne donne cette réaction. Cette réaction a donc, pour le diagnostic, une réelle valeur. Il ne faut, toutefois, pas oublier que toutes les peptones ne donnent pas des résultats également satisfaisants, ce qui tiendrait à leur teneur variable en azotates. Il faut donc connaître d'avance la peptone que l'on emploie. Ensuite, l'acide sulfurique ne doit pas contenir de traces d'acide azoteux. La réaction ne doit être faite qu'avec des cultures pures de bacille virgule et dans une solution de peptone non additionnée de bouillon.

Expériences sur les animaux. — Pour obtenir sur les animaux une action toxique, il faut employer des cultures sur agar, la toxine du choléra étant, ainsi que l'a montré M. Pfeiffer, contenue principalement dans les bacilles cholériques. On prend, à la surface de l'agar, une anse de platine (environ 1,5 milligramme), on délaye dans un centimètre cube de bouillon stérilisé et on injecte celui-ci dans la cavité abdominale de cobayes. Bientôt après l'injection, on voit apparaître les phénomènes d'intoxication décrits en détail par M. Pfeiffer, et parmi lesquels un abaissement de la température aboutissant à la mort est le plus important.

Même ceux qui n'admettent pas encore la spécificité du bacille virgule comme *cause* du choléra reconnaîtront l'importance de sa constatation, car personne ne met en doute que ce bacille ne soit constamment présent dans les cas de choléra, ce qui rend sa valeur, comme signe diagnostique, incontestable. Les quelques rares cas dans lesquels il n'a pas été trouvé n'ont guère de valeur, comparés aux cas innombrables dans lesquels sa présence a été constatée ; et, d'ailleurs, il est bien probable qu'en le cherchant mieux, ou à d'autres moments de la maladie, on l'eût trouvé.

Recherche du bacille cholérique dans l'eau. — En n'employant que des quantités minimes d'eau pour ensemencer des plaques de gélatine, ainsi qu'on le faisait jusqu'ici, il est difficile de tomber sur

des bacilles virgules, en suite de la concurrence des autres bactéries de l'eau. Aussi les résultats ont-ils été jusqu'à ces derniers temps, presque toujours négatifs.

Pour arriver au but, il faut ici, également, se servir des cultures dans la peptone. Voici le procédé adopté par M. Koch. On prend autant d'eau que possible (jusqu'à 100 cmc.), que l'on additionne de 1 p. 100 de peptone et de 1 p. 100 de sel de cuisine, et l'on tient le mélange à 37°. Au bout de 10, 15 et 20 heures, on fait des plaques sur agar avec cette culture. L'examen microscopique de la solution de peptone importe moins ici, car il n'est guère d'eau qui ne puisse fournir des bactéries courbes, ressemblant à celles du choléra.

Les colonies suspectes se développant sur l'agar sont ensuite étudiées microscopiquement par la réaction de l'indol et par des expériences sur les animaux. Avec ces procédés, les bacilles cholériques ont pu être décelés dans l'eau de l'Elbe, de la Saale, dans une fontaine à Altona, dans des eaux d'épandage et dans la conduite d'eau de l'Institut.

E. F.

Dr F. Honigmann. — **Recherches bactériologiques sur le lait de femme** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIV, p. 207).

Dans une précédente analyse, nous avons exposé les résultats des recherches de M. Palleske et de MM. Cohn et Neumann sur la teneur en bactéries du lait de femme. On se rappelle que le premier, dans 10 cas sur 22, y avait trouvé le staphylocoque blanc, et que MM. Cohn et Neumann avaient constaté une contamination du lait dans 85 cas sur 100.

Ces divergences ont engagé M. Honigmann à reprendre ces expériences. Sur 76 analyses bactériologiques de lait de femme, 4 seulement donnèrent un résultat négatif. Dans tous les autres cas, M. Honigmann constata la présence de staphylocoques blancs et jaunes. Le premier était le plus fréquemment présent. D'autres bactéries ne furent trouvées que dans trois cas.

Le nombre des bactéries trouvées dans un centimètre cube est très variable, il oscille entre 1 et 9,216. L'identité des microbes trouvés avec les staphylocoques paraît prouvée à l'auteur par le résultat des cultures et des inoculations aux animaux.

D'après les recherches de l'auteur, il est assez difficile de découvrir la cause de la teneur en germes du lait de femme. L'état de maladie, fièvre puerpérale, etc., semble n'exercer que peu d'influence, car, dans des cas où la santé était parfaite, la teneur en germes était la même. La présence de gerçures au sein, qui semblent

faciliter l'invasion des germes du dehors, n'exerce pas non plus d'action sur le nombre des bactéries. L'accumulation du lait dans la glande mammaire paraît également sans influence, contrairement à l'avis de MM. Cohn et Neumann.

Comme l'on trouve, en général, autant de bactéries à l'état de santé que lorsque de la fièvre existe, l'auteur incline à croire que ces germes pénètrent du dehors. Il est seulement curieux de voir que l'on ne trouve que des staphylocoques pyogènes. Dans le lait des animaux, j'ai moi-même trouvé surtout des ferments lactiques. Il est vrai que j'employais des milieux de culture sucrés, éminemment propres à leur éclosion, tandis que l'agar ou bouillon de viande qu'employait M. Honigmann ne permet guère de cultiver les ferments lactiques. Il serait, en tout cas, utile de reprendre ces expériences en variant les terrains de culture.

M. Honigmann a aussi examiné le lait de femme au point de vue de son action bactéricide. On se rappelle peut-être que j'ai établi ici même (voir ces *Annales*, t. III, p. 410) une action nettement bactéricide du lait de vache et de chèvre. M. Honigmann, qui paraît ne pas connaître ces expériences, a constaté, au contraire, que le lait de femme est absolument dépourvu de ce pouvoir bactéricide, du moins à l'égard des bacilles cholériques et typhiques, ainsi que des staphylocoques.

E. F.

E. Burci et V. Frassani. — **Contribution à l'étude de l'action bactéricide du courant continu** (*Institut de pathologie générale de l'Université royale de Pise*, chez F. Nistri et Cie, imprimeurs).

Les auteurs ont recherché si, par le moyen du courant continu, on peut arriver à tuer les bactéries dans les tissus. On sait que le courant électrique est susceptible de tuer, par les modifications chimiques qu'il produit, des bactéries en suspension dans un liquide. Cette action électrolytique a déjà été mise en évidence par les expériences d'Apostoli et Laquerrière, de Prochownick et Spaeth, etc. MM. Burci et Frassani ont d'abord étudié l'action de l'iode développé par électrolyse dans des solutions d'iodure de potassium sur les bactéries tenues en suspension dans le liquide. Celui-ci se trouvait dans un tube en U, dans les branches duquel plongeaient les rhéophores. En employant des courants d'une intensité généralement de 10 milliampères, ils virent les bactéries sur lesquelles ils expérimentaient (staphylocoques, streptocoques, *Bac. ureæ* et spores charbonneuses) périr au bout de quelques minutes (5 à 30) dans le tube contenant le pôle positif et dans lequel se développait l'iode. Dans l'autre, au contraire, les bactéries restaient vivantes.

Ils essayèrent alors de tirer des résultats thérapeutiques de ces données. Dans une série d'expériences, ils inoculèrent des microbes pyogènes sur l'oreille de lapins et soumirent les parties inoculées à l'action directe du courant. Les résultats furent peu considérables, sauf dans les cas où l'application avait lieu de suite après l'inoculation. Ils notèrent alors un retard dans l'apparition des phénomènes ou une moindre intensité de ceux-ci.

Dans une seconde série d'expériences, l'oreille inoculée fut plongée dans un bain (eau distillée, solution de chlorure de sodium de 1 à 5 p. 100, solution d'iodure de potassium, 5 et 10 p. 100) et soumise à l'application du courant (de 30 à 300 milliampères pendant une demi-heure). L'eau distillée et les solutions de chlorure de sodium ne donnèrent pas de résultats encourageants. Avec l'iodure de potassium les résultats furent meilleurs, et souvent une amélioration ou même la guérison furent obtenues. Pour le détail des expériences, nous renvoyons le lecteur à l'intéressant mémoire des auteurs.

E. F.

A. Blachstein et J. Zumft. — **Contribution à l'étiologie du choléra** (*Archives des sciences biologiques*, publiées par l'*Institut impérial de médecine expérimentale à Saint-Pétersbourg*, II, p. 95).

Les auteurs, qui ont étudié l'épidémie cholérique de 1892 à Bakou et à Astracan, sont arrivés à des résultats de nature à éclaircir quelques points obscurs dans l'étiologie du choléra. En effet, bien que l'on ne puisse aujourd'hui sérieusement mettre en doute que le bacille virgule de Koch soit la cause du choléra asiatique, bien des points dans la marche du fléau restent encore peu clairs. Ainsi, l'on voit la maladie se propager très inégalement dans des localités également mal partagées sous le rapport sanitaire ; parfois on ne trouve que peu ou pas de bacilles virgules; d'autres fois, on voit nombre de personnes avaler sans le vouloir ou même intentionnellement comme MM. de *Pettenkofer* et *Emmerich* de fortes quantités de bacilles sans en être incommodés ou du moins sans présenter de symptômes graves. Aussi est-on obligé, comme le fait M. *Flügge* dans un récent article publié par la *Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankeiten*, d'accorder une notable influence à la disposition personnelle et à la concomitance de troubles intestinaux favorisant l'évolution du bacille virgule. MM. *Blachstein* et *Zumft* croient, au contraire, que l'on a trop négligé le rôle de diverses bactéries secondaires trouvées par eux chez les cholériques et dont la présence serait nécessaire pour que le bacille cholérique déploie toute sa virulence. Inoculant dans du bouillon un peu de matières fécales riziformes, ils y constatèrent généralement, après 24 et

36 heures, à 30° et 35°, la présence du bacille virgule, mais toujours aussi celle d'autres bactéries. Ces cultures mixtes étaient très toxiques ; quelques gouttes injectées sous la peau tuaient des souris en 5-15 heures, et 2 centimètres cubes les lapins. Au contraire, en injectant le bacille virgule seul dans le tissu sous-cutané, les auteurs ne virent jamais succomber leurs animaux d'expérience. Ils furent ainsi amenés à isoler et à étudier les microorganismes que l'on rencontre avec le bacille virgule dans les déjections cholériques. Ils décrivent les espèces suivantes :

1° *Bacille* β-1. — Bâtonnets un peu plus larges et plus longs que le bacille virgule, à mouvements visibles en goutte pendante, se colorant facilement avec les couleurs ordinaires ; on n'y observe pas de spores. Trouvé en grande quantité dans les selles cholériques, surtout chez des cholériques typhiques et dans quelques cas de diarrhée cholériforme. Il liquéfie la gélatine et est sûrement tué par une simple ébullition.

2° *Bacille* β-2. — Isolé, à l'autopsie, du contenu de l'intestin grêle d'un malade mort dans la période d'algidité. Il est un peu plus court et plus gros que le précédent ; à tous autres égards, il rappelle le bacille β-1 et lui est peut-être identique.

3° *Bacille* α. — Isolé de matières riziformes typiques. Ne liquéfie pas la gélatine. Il prédominait surtout au commencement et à la fin de l'épidémie, quand on ne trouvait que peu de bacilles virgules. Il est mobile, se colore bien avec des couleurs d'aniline, mais se décolore par la méthode de Gram. Il rappelle le *Bacterium coli commune*, mais s'en distingue en ce qu'il ne produit pas d'acide lactique actif, en décomposant le sucre, mais de l'acide succinique.

Après avoir fixé les doses de cultures pures que les animaux peuvent supporter, les auteurs constatèrent que, quand on associe ces différents microbes dans une culture avec le bacille virgule, des doses moindres tuent les animaux. Ainsi des souris supportant 1/10 centimètre cube de culture du bacille virgule et la même dose du bacille β-1, mouraient quand on leur inoculait 1/10 centimètre cube d'une culture mixte de ces deux microbes. Il en était de même avec les bacilles α et β-2. Pour obtenir des cultures très toxiques, le mieux est, d'après MM. *Blachstein* et *Zumft*, d'inoculer le bacille virgule dans une culture d'un jour de la bactérie à laquelle on veut l'associer. Il semblerait donc résulter de ces expériences que la présence de ces bactéries dans le canal intestinal des cholériques exalte la toxicité du bacille virgule. Les bactéries que l'on trouve dans le canal intestinal de l'homme sain sont, au contraire, dépourvues de cette faculté, ainsi que s'en sont assuré les auteurs. A l'autopsie, les auteurs constataient un œdème sanguinolent à la place de l'injection et un fort catarrhe de l'intestin grêle. Jamais il n'y avait septicémie, car les inoculations faites directement avec le liquide de l'œdème

ou le sang ne transmettaient pas la maladie. Il semble donc qu'il s'agissait bien d'une intoxication comme dans le choléra.

MM. *Blachstein* et *Zumft* arrivent, en conséquence à la conclusion suivante : l'infection cholérique se produit par un mélange de bactéries où le bacille de Koch joue peut-être un rôle principal ; mais il ne peut provoquer le choléra sans le concours de bactéries secondaires. Les faits avancés par les deux savants russes expliquent, en effet, en partie du moins, les irrégularités constatées au sujet du bacille virgule de Koch, telles que sa présence chez des individus n'ayant pas le choléra, son absence dans des cas avérés de choléra, absence qui s'expliquerait par ce fait que les bacilles secondaires prendraient le dessus après l'infection causée par le mélange de bactéries, etc.

Il est à noter, ainsi que le fait remarquer M. *Nencki* dans une note accompagnant le Mémoire de MM. *Blachstein* et *Zumft*, que MM. *Lesage* et *Macaigne*, à Paris, ont également toujours constaté la présence d'autres microbes avec le bacille virgule dans les matières fécales de cholériques. Ces auteurs parlent, en particulier, d'une bactérie qu'ils considèrent comme le *Bact. coli commune.* Mais on sait que cette dénomination ne s'applique pas à une espèce parfaitement déterminée, mais plutôt à tout un groupe de microorganismes ; aussi est-il possible que leur *Bact. coli commune* soit identique au *Bacille* α de MM. *Blachstein* et *Zumft.*

Les conclusions de ces auteurs appellent naturellement de plus amples études, et il sera aisé de voir si, dans de nouvelles épidémies, les mêmes microbes accompagnent le bacille virgule ; aussi avons-nous pensé qu'il n'était pas sans intérêt de signaler ces résultats si nouveaux.

E. F.

Dr G. von Rigler. — **De la désinfection au moyen des vapeurs ammoniacales** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 651).

L'auteur s'étant assuré par des expériences de laboratoire de l'action microbicide des vapeurs ammoniacales, entreprit de rechercher si ce procédé peut servir à la désinfection des habitations.

Pour cela, il choisit une chambre de l'Institut hygiénique de Budapest d'une contenance de 99,82 mètres cubes, y suspendit des fils imprégnés de culture dans du bouillon et développa des vapeurs ammoniacales en versant simplement de l'ammoniaque liquide dans des vases plats. Une partie des fils étaient posés sur la table, d'autres étaient enveloppés dans des linges préalablement stérilisés, secs ou mouillés, qui étaient pliés 8 fois. Des expériences de contrôle se faisaient de la même façon dans une seconde chambre, sans ammoniaque; chaque expérience fut répétée plusieurs fois.

Voici les résultats obtenus par M. von Rigler :

1° *Bacille du choléra.* — Dans la chambre contenant des vapeurs ammoniacales, les bacilles, non protégés par des linges, furent trouvés morts après 2 heures. Dans la chambre de contrôle, les fils se montrèrent stériles après 3 heures. Les fils enveloppés dans des linges secs se comportèrent de même (2 et 3 heures). Ceux enveloppés dans des linges humides furent stérilisés en 4 heures dans la chambre à ammoniaque : dans la chambre de contrôle, ces fils donnèrent encore, après 48 heures, d'innombrables cultures sur les plaques.

2° *Bacille typhique.* — Les fils non enveloppés se montrèrent stériles après 2 heures déjà ; dans la chambre de contrôle, par contre, ils donnèrent d'innombrables colonies typhiques encore après 24 heures. Il en fut de même pour les fils enveloppés de linges secs. Ceux qui étaient empaquetés dans du linge humide furent stérilisés en 6 heures, tandis qu'ils donnaient d'innombrables cultures typhiques encore après 24 heures passées dans la chambre de contrôle.

3° *Bactéridie charbonneuse sans spores.* — Celle-ci fut tuée après 3 heures (linges secs), et 5 heures (linges humides). Les fils placés dans la chambre de contrôle donnèrent, au contraire, d'innombrables colonies de charbon encore après 24 heures.

4° *Bactéridie charbonneuse avec spores.* — Les spores furent stérilisées en 3 heures (linges secs) et 8 heures (linges humides).

5° Le *Bacille diphtérittique* fut tué sûrement après 8 heures (dans n'importe quelles conditions).

Ce moyen de désinfection paraît donc se recommander tant par la sûreté des résultats que par le peu de frais qu'il entraîne et la facilité de son emploi. En Autriche, un kilogramme d'ammoniaque liquide pure coûte 40 kreutzers (pas même 1 franc). Un kilogramme que l'on verse dans des vases plats et larges, et qu'on laisse agir pendant 8 à 10 heures, suffit pour 100 mètres cubes. Les meubles et les tentures ne souffrent pas, et il suffit de fermer simplement les portes et les fenêtres sans les coller avec des bandes de papier.

Dans les expériences de l'auteur il s'était évaporé : 200 grammes après 1 heure, 250 grammes après 2 heures, 300 grammes après 3 heures, 350 grammes après 4 heures, 390 grammes après 6 heures ; 450 grammes après 8 heures.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Mars* 1893

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 9 du 27 Février au 5 Mars 1893. .	1.680	670	8°,8	6mm,7	S	17km,7	127	155
N° 10 » 6 Mars » 12 » » . .	2.500	840	9 ,4	»	N.W	10 ,0	136	161
N° 11 » 13 » » 19 » » . .	4.660	350	9 ,7	4 ,2	W	15 ,9	106	150
N° 12 » 20 » » 26 » » . .	8.500	500	8 ,9	»	N.E	11 ,8	124	123
N° 13 » 27 » » 2 Avril » . .	7.680	350	11 ,9	0 ,1	N.E	9 ,4	148	235
MOYENNES ET TOTAUX	5.000	542	9°,7	11mm,0	N	12km,9	641	824
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Mars 1893. Bactéries = 1.400 Moisissures = 2.400 Température = 10°,6

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Mars 1893. Bactéries = 359 Moisissures = 126 Température = 9°,7

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Mars* 1893

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Mars 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge	4.240	1.250	»	Canalis. = 2.000 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant	2.450	3.825	»	Canalis. = 1.700 »
» de l'Avre (Lavage des conduites)	19.870	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur	132.000	58.430	8°,5	»
» de la Seine à Ivry	33.000	54.280	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	72.000	76.810	»	Hauteur = 2^m,30
» de la Seine au pont de l'Alma	490.000	200.960	9°,3	»
» de la Seine à Argenteuil	400.000	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	261.000	75.845	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, rue de l'Arbre-Sec (Paris)	19.000	»	»	»
» commun, (Maison-Laffitte)	240.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur	»	3.280	»	»
» d'Asnières	1.800	2.330	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	19.500.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	28.000.000	27.405.000	»	»
» » traitée à Bondy	1.400.000	119.185	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Avril* 1893

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 14 du 3 Avril au 9 Avril 1893 . .	37.800	200	15°,1	»	NE	12^{km},6	131	326
N° 15 » 10 » » 16 » » . .	13.500	850	10 ,6	»	NE	15 ,0	160	432
N° 16 » 17 » » 23 » » . .	4.830	340	16 ,6	»	NE	9 ,1	176	469
N° 17 » 24 » » 30 » » . .	6.340	330	15 ,8	»	NE	14 ,6	135	330
» » » » » . .	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	15.615	430	14°,5	»	NE	12^{km},8	602	1.597
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Avril 1893. Bactéries = 2.500 Moisissures = 1.250 Température = 12°,8

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Avril 1893. Bactéries = 800 Moisissures = 124 Température = 14°,5

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Avril* 1893

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Avril 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	675	1.250	»	Canalis. = 7.100 bactér.
» de la Dhuis à Ménilmontant.	150	3.825	»	Canalis. = 4.600 »
» de l'Avre (Lavage des conduites). . . .	5.375	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	65.500	58.430	13°,8	»
» de la Seine à Ivry	72.500	54.280	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	105.000	76.810	»	Hauteur = 1^{m},10
» de la Seine au pont de l'Alma.	160.000	200.960	14°,6	»
» de la Seine à Argenteuil	2.950.000	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	23.000	75.845	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits rue Princesse à Paris	22.000	»	»	»
» rue des Marais (Maison-Alfort)	32.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	3.000	3.280	»	»
» du moulin de Cage	2.000	9.105	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	15.500.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	63.000.000	27.405.000	»	»
» » traitée à Bondy	1.060.000	119.185	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

Dr Th. Smith. — Die Aetiologie des Texasfiebers des Rindes. L'étiologie de la fièvre du Texas du bœuf (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 511).

Dr O. Voges. — Ueber das Wachsthum der Cholerabacillen auf Kartoffeln. De la croissance du bacille cholérique sur la pomme de terre (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 543).

Dr F. Rohner. — Versuche ueber die antibakterielle Wirkung des Oxychinaseptols. Recherches sur le pouvoir microbicide de l'oxychinaseptol (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 551).

Dr Emmerich et Dr Tsuboi. — Ueber die Erhöhung und Regenerirung der mikrobiciden Wirkung des Blutserums. Sur l'exaltation et la régénération de l'action microbicide du sérum de sang (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 575).

L. Besser. — Ein noch nicht beschriebener Bacillus bei der Variola vera. Un bacille non encore décrit dans la variole (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 590).

Dr Fr.-A. Janssens. — Beiträge zur Frage über den Kern der Hefezelle. Contribution à la question du noyau des levures (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 639).

C. Flügge. — Die Verbreitungsweise und Verhütung der Cholera auf Grund der neueren epidemiologischen Erfahrungen und experimentellen Forschungen. De la manière de se répandre du choléra et de sa prophylaxie basée sur les expériences épidémiologiques et sur les recherches expérimentales récentes (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XIV, p. 522).

E. Pfuhl. — Zur Erforschung der Typhus-Aetiologie. Contribution à l'étiologie du typhus (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIV, p. 1).

L'Éditeur-Gérant: Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

DE L'AUTO-DÉFENSE DE L'ORGANISME CONTRE LES GERMES INFECTIEUX DANS SES RAPPORTS AVEC LES SUPPURATIONS

PAR

Le Dr GAETANO BERNABEO
Assistant de la clinique chirurgicale de l'Université royale de Naples (1)

I

Dans l'auto-défense de l'organisme les leucocytes jouent un rôle important, et cela tant localement qu'à un point de vue général.

La principale manifestation de ce pouvoir défensif exercé *localement* est le *phagocytisme*, cette propriété biologique des leucocytes qui découle d'autres propriétés non moins importantes telles que la *mobilité*, la *sensibilité physio-chimiotaxique* et la présence de *diastases* dans le protoplasme cellulaire. Les suppurations, ce processus si fréquent, important et général, sont un terrain sur lequel cet ensemble de propriétés leucocytaires trouve souvent une explication manifeste.

Qu'est-ce que la suppuration? Elle est l'effet d'une irritation produite par divers agents. Ainsi certains microorganismes (les microcoques pyogènes, le *Bacterium coli commune*, le bacille pyocyanique, celui du typhus, la bactéridie charbonneuse, etc.), des substances contenues dans des cultures stérilisées de bactéries, la *phlogosine* de Leber, la *cadavérine* de Grawitz, la *protéine* de Buchner,

(1) Travail fait à l'Institut d'hygiène de l'Université royale de Naples, dirigé par le professeur V. de Giaxa.

la *leucine* de Massart et Bordet, la *papaïotine* de Gabritschewsky, et enfin, tous les agents irritants d'ordre *physique* et *chimique* peuvent déterminer une suppuration. Dans le cas de suppuration causée par des micrococques pyogènes ou d'autres bactéries, il me semble que celle-ci n'est pas produite par le microbe même, mais par ses produits. Quelle que soit, d'ailleurs, la cause qui détermine l'afflux des leucocytes, elle agit toujours en vertu d'un pouvoir qui excite chez les leucocytes des mouvements d'attraction (*chimiotaxie positive*). Amenés à l'endroit menacé, les leucocytes englobent, grâce à leur propriété physiotactique les corps étrangers (*sensibilité tactile*), tous fragments d'éléments morphologiques, les granulations inertes et les microorganismes, morts ou encore vivants et virulents (Metchnikoff). A leur pouvoir de s'incorporer ces corps étrangers (*pouvoir phagocytaire*), se joint encore celui de les digérer et de les détruire, d'où découle la guérison des infections.

Or, quelle influence exerce sur le pouvoir d'autodéfense générale tout ce travail local et de réaction de la part de l'organisme à l'égard des agents de la suppuration ?

C'est sur ce point de physio-pathologie générale qu'ont été dirigées mes recherches. Je me suis proposé d'étudier :

1° L'influence de la suppuration sur la faculté physio-chimiotaxique des leucocytes ;

2° L'effet, sur l'organisme, de l'appauvrissement du sang en globules blancs, déterminé par l'exsudation purulente ;

3° Quelles sont les modifications que les surfaces suppurantes apportent au pouvoir bactéricide du sang.

En fait d'animaux d'expérience, je me suis exclusivement servi de lapins. Je rasais l'abdomen sur une superficie de 8-10 centimètres et sur la surface rasée je pratiquais de nombreuses solutions de continuité intéressant les couches du derme et se croisant en sens variés. Une culture sur agar de staphylocoques pyogènes dorés était alors étalée sur la surface sanguinolente et bien frottée sur celle-ci au moyen d'une spatule. Je recouvrais ensuite toute la superficie avec une lamelle de caoutchouc, appliquée directement et maintenue en place par un bandage. Après 2 à

3 jours le lapin présentait une surface suppurante. En ce qui concerne la technique des expériences relatives à la chimiotaxie, je me suis servi de celle employée pour la première fois par Pfeffer, et ensuite par Leber, Massart et Bordet, Gabritschewsky et d'autres encore. Je crois devoir la décrire ici, spécialement en ce qui concerne une petite modification que j'y ai apportée.

Les tubes capillaires que j'emploie ont un diamètre de 1,2 millimètre, le morceau de tube introduit est long de 3 centimètres, fermé à l'un de ses bouts et plein aux deux tiers d'une culture stérilisée du staphylocoque pyogène doré. Avant de remplir le tube, je l'étire en fine pointe à la lampe à l'un des bouts, et une fois rempli par capillarité, je le ferme en passant le bout étiré dans la flamme. De cette façon on peut le fermer sans l'exposer à une trop forte chaleur et sans rien perdre du contenu. On comprend facilement que des plaies étendues puissent dans des expériences aussi délicates avoir une grande influence sur l'exactitude et la précision des résultats. Pour les éviter le mieux possible, je fis faire un tuyau de platine fixé à une baguette de verre. Ce tuyau était aussi long que le tube de verre qui devait être introduit et son diamètre permettait tout juste d'y placer un tube. Après avoir fait une ouverture avec les ciseaux dans un point donné de la peau, j'introduisais avec toutes les précautions nécessaires et avec des instruments stérilisés le tuyau de platine muni de son tube de verre dans l'ouverture et laissais ce dernier dans l'intérieur. Ce mode de faire non seulement cause peu de dégâts, mais permet mieux que tout autre d'appliquer l'asepsie et l'antisepsie, qui sont de la plus grande importance pour l'exactitude de l'expérience et la précision des résultats.

Je commençai mes recherches par l'étude du pouvoir chimiotaxique des leucocytes dans des parties rapprochées ou éloignées de la suppuration.

Expérience I. — A 2 heures de l'après-midi, 2 tubes préparés de la manière sus-indiquée sont introduits chez un lapin, présentant une surface suppurante de l'abdomen de la grandeur de la paume de la main, à 2 centimètres environ de la limite de la suppuration. Deux autres tubes pré-

parés de la même manière sont introduits sous la peau du dos du même lapin. En même temps, un lapin sain, du même poids que le précédent, reçoit également 2 tubes, introduits aux mêmes places de l'abdomen et du dos.

Le jour suivant, à la même heure, j'enlève tous les tubes et je constate une notable émigration de leucocytes dans l'intérieur des 4 tubes du lapin sain et des 2 tubes placés chez l'autre lapin à 2 centimètres de la surface suppurante. Dans les tubes, au contraire, placés sous la peau du dos de ce même lapin, le nombre des leucocytes qui y avaient pénétré était assez peu considérable.

Expérience II. — Cette expérience est pareille à la précédente, sauf que les tubes restent en place non pas 24, mais 18 heures. Ici aussi il y a une surface suppurante également étendue, les tubes sont introduits aux mêmes endroits et l'inévitable lapin de contrôle ne fait pas non plus défaut. Le résultat est identique à celui de l'expérience I.

Expérience III. — Je répète encore les expériences précédentes en enlevant les tubes après 6 heures. Le résultat est toujours le même, sauf qu'ici la colonne de leucocytes est un peu inférieure à celle des expériences précédentes.

Expérience IV. — En opérant de la même façon, je place 2 tubes à 4 centimètres des bords de la surface suppurante. Le reste de l'expérience est analogue aux précédentes. J'enlève les tubes après 24 heures et je constate que le nombre des leucocytes qui ont pénétré dans l'intérieur des deux tubes est de beaucoup inférieur à celui qui avait été observé dans les tubes correspondants de l'expérience I.

Expérience V. — Deux tubes sont placés à 5 centimètres au bord de la surface suppurante. Après 24 heures ils contiennent un nombre de leucocytes inférieur à celui qui avait été trouvé dans les tubes correspondants de l'expérience IV.

Je n'ai pas manqué d'examiner les tubes contenant les leucocytes, retirés tant du voisinage des plaies suppurantes que des lapins sains. De ces tubes quelques-uns me servirent à faire des cultures en vue d'exclure le cas d'une souillure fortuite, les autres furent destinés à l'examen micros-

copique. J'examinais directement le contenu que je faisais sortir du tube en en chauffant le bout scellé et que je recueillais sur un couvre-objet.

Les préparations fraîches que je colorais avec des couleurs d'aniline dans une solution à 0,75 p. 100 de chlorure de sodium me permirent de constater la présence prépondérante de deux variétés de leucocytes. L'une est représentée par des leucocytes mononucléaires, dans lesquels le noyau se colorait à peine et le protoplasme un peu plus que le noyau ; aucunes granulations ne s'y voyaient. L'autre variété était représentée par des leucocytes munis de noyaux divers, mais le plus souvent avec une seule division en plusieurs parties. Leur protoplasme était riche en granulations qui se coloraient avec le mélange de couleurs acides et de couleurs basiques d'aniline (leucocytes neutrophiles). Les autres variétés de leucocytes n'étaient représentées qu'en très petit nombre.

Les préparations sèches faites avec le contenu des tubes retirés des lapins de contrôle et traités comme pour la recherche des micrococques pyogènes me donnèrent des résultats négatifs. Par contre, la recherche des micrococques pyogènes sur les préparations des tubes extraits du voisinage des suppurations donnèrent fréquemment un résultat positif. Les micrococques étaient englobés.

La conclusion des expériences 1, 2, 3 et 4 serait que chez un lapin présentant de la suppuration et à proximité de celles-ci, les leucocytes ont la faculté de pénétrer dans les tubes (chimiotaxie positive), tandis qu'en des endroits éloignés et ne présentant pas d'altérations, cette faculté s'affaiblit peu à peu toujours davantage, à mesure qu'on s'éloigne de l'endroit de la suppuration (chimiotaxie négative). Les leucocytes qui pénètrent dans les tubes sont de préférence des leucocytes mono et polynucléaires.

Ces résultats, placés en regard des théories de M. Metschnikoff, devaient nécessairement me faire envisager la possibilité de 3 autres faits :

1° Chez un lapin présentant une surface suppurante, la suppuration devrait, en un point éloigné de cette surface, se développer, à parité d'extension, plus lentement et avec moins d'intensité ;

2° Chez un lapin présentant une surface suppurante d'une étendue donnée, la suppuration devrait, en un point éloigné de cette surface, s'établir régulièrement, si elle était provoquée sur une surface plus étendue que celle de la suppuration préexistante ;

3° Un microorganisme à chimiotaxie positive inoculé sur un lapin à surface suppurante, en un point éloigné de celle-ci, devrait, à parité de conditions, avoir un résultat plus fatal que chez un lapin sain.

J'entrepris dans cette direction les expériences suivantes :

Expérience VI. — Sur un lapin du poids de 1 200 gr. qui depuis 4 jours avait sur l'abdomen une surface suppurante de 5 centimètres carrés, je pratiquai, de la façon indiquée, une plaie sanguinolente de même étendue sur le dos que j'enduisis d'une culture sur agar de staphylocoques pyogènes.

A titre de contrôle, je fis la même opération sur le dos d'un lapin de même poids, mais ne présentant pas de suppuration sur l'abdomen.

Le 3e jour, après avoir enlevé les bandages, je trouve sur le dos du lapin de contrôle une surface suppurante avec exsudat copieux, tandis que sur le dos de l'autre lapin l'exsudat était très rare.

J'ai répété plusieurs fois l'expérience VI et toujours avec le même résultat.

Expérience VII. — Il arriva une fois qu'un lapin ayant à l'abdomen une surface suppurante et traité comme il est dit plus haut, put défaire le bandage pendant la nuit et lécher la plaie suppurante de l'abdomen ; le matin celle-ci était recouverte d'une croûte sèche. La surface suppurante du dos, que le lapin n'avait pas pu atteindre avec sa langue, n'était pas détergée. Je remplaçai le bandage comme avant et 3 jours après le lapin présentait sur le dos une notable suppuration, tandis que la suppuration abdodominale avait entièrement disparu.

Il paraîtrait donc qu'il existe véritablement un antagonisme d'intensité entre deux surfaces suppurantes également étendues, distantes l'une de l'autre, mais dont l'une n'est provoquée que quelque temps après la première.

Expérience VIII. — Sur un lapin du poids de 1 100 gr. porteur depuis 4 jours d'une surface suppurante sur l'abdomen, de 4 centimètres carrés, je pratique sur le dos une surface sanguinolente deux fois aussi étendue et je l'enduis, comme d'habitude, d'une culture sur agar de staphylocoques pyogènes.

Le 3e jour, après avoir enlevé le bandage, je trouve sur le dos une suppuration copieuse et supérieure à celle de l'abdomen, L'étendue double de la surface suppurante du dos aurait donc rendu aux leucocytes la faculté de se diriger du côté du nouvel endroit menacé, faculté qu'ils avaient perdue en partie à la suite de la suppuration abdominale préexistante. La chimiotaxie négative serait devenue positive.

Expérience IX. — A un lapin du poids de 1 200 gr. et porteur d'une surface suppurante sur l'abdomen d'environ 5 centimètres carrés, j'inocule dans la cavité abdominale 1 1/2 cmc. de culture dans du bouillon de *Bacterium coli commune.* A titre contrôle, j'inocule aussi dans la cavité abdominale d'un second lapin sain et du même poids, une quantité égale de la même culture. Le lapin à surface suppurante meurt après 24 heures, l'autre survit.

La même expérience est répétée 3 fois et toujours avec le même résultat.

Expérience X. — A un lapin du poids de 1 000 gr. et porteur d'une surface suppurante d'environ 5 centimètres carrés sur l'abdomen, j'inocule dans la cavité abdominale 2 cmc. d'une culture virulente de *Bacterium coli commune.* Un lapin sain de contrôle est inoculé de la même façon avec une quantité égale de la même culture. Après 20 heures le lapin à surface suppurante meurt, l'autre survit pendant 24 heures.

Si le lapin de contrôle de l'expérience IX a survécu et si chez celui de l'expérience X la mort est survenue avec un retard, la raison peut en être vraisemblablement recherchée dans le fait que chez les lapins sains les leucocytes ont été attirés en plus grand nombre et plus rapidement au point d'invasion et que leur pouvoir phagocytaire a pu, dans un cas, sauver la vie et, dans l'autre, la prolonger au moins.

Il résulterait ainsi de mes expériences que les 3 hypothèses émises plus haut trouvent une confirmation dans l'expérimentation.

Si l'on porte les conclusions formulées jusqu'ici dans le domaine de la thérapeutique chirurgicale, on voit qu'elles expliquent peut-être quelques actions curatives que l'empirisme clinique connaît de longue date.

Les anciennes écoles possédaient dans leur arsenal thérapeutique un moyen, qui, modifié de diverses façons dans son application, a résisté pendant de longs siècles. L'évolution progressive de la thérapeutique chirurgicale plutôt que de le renverser et de l'oublier dans un musée des antiquités, l'a cultivé avec amour et l'a perfectionné dans son application pratique. Il est clair que la raison de cette persistance doit être cherchée dans son efficacité immanquable. Le moyen thérapeutique dont je parle est l'exutoire, qui, appliqué suivant les diverses écoles, tantôt avec le moxa, tantôt avec l'euphorbe, tantôt avec la cantharide et maintenant avec les cautères actuels et puissants, n'a jamais manqué à sa réputation. Mes expériences donnent la démonstration scientifique de son mécanisme thérapeutique.

Les vésicatoires et les applications passagères de caustiques devraient ainsi leur efficacité curative à la *chimiotaxie* des leucocytes.

En conclusion, *si, dans un organisme porteur d'un processus inflammatoire on en provoque un autre de plus grande intensité (pouvoir chimiotaxique plus considérable) en un endroit plus ou moins éloigné, on peut affirmer que les leucocytes se dirigeront du point doué d'un moindre pouvoir attractif vers celui dont le pouvoir attractif est plus grand.*

Et ici il y a lieu de noter l'importance des données fournies par les préparations faites avec le contenu des tubes. Elles montrent, en effet, des leucocytes mono et polynucléaires et précisément les variétés qui possèdent au plus haut degré les propriétés physiotactiques et phagocytaires. Je n'y ai trouvé qu'en nombre très limité les *cellules éosinophiles* et les *lymphocytes*, dont l'absence presque totale confirmerait encore une fois leur manque

de locomotion et leur incapacité d'englober des corps étrangers (pouvoir phagocytaire).

II

L'augmentation anormale des leucocytes dans le sang constitue la *leucocytose*, et celle-ci peut tenir à des causes multiples. Celle qui se produit dans le cours d'une maladie accompagnée d'exsudations inflammatoires en un point quelconque de l'organisme s'appelle *leucocytose inflammatoire*. Les études dont cette forme de leucocytose a été l'objet ne remontent pas à plus d'une dizaine d'années. Limitées d'abord à la fixation du rapport numérique des corpuscules blancs et rouges, leur champ d'investigation s'étendit peu à peu et elles recherchèrent la marche de ce rapport dans plusieurs maladies en général et dans la fièvre, en particulier.

La pneumonie croupeuse offrit de préférence un vaste champ aux recherches de Tumas, de Bekmaner de Halle, de Jaksch, et ils y constatèrent d'une manière incontestable l'existence d'une leucocytose marquée. De même, on releva bientôt l'antagonisme, au point de vue du nombre des leucocytes, entre la pneumonie croupeuse et le typhus abdominal ; Jaksch alla même si loin dans ses conclusions qu'il considéra la leucocytose comme un signe de diagnose différentielle entre ces deux maladies.

Mais le mérite d'avoir étudié la *leucocytose inflammatoire* avec le plus de détails revient à Limbeck. Il chercha à confirmer l'absence de leucocytose dans le typhus abdominal ; mais les observations faites à la clinique médicale de Gênes par Castellino et les recherches exécutées à la clinique médicale de Rome, pour ne citer que ces travaux parmi la nombreuse littérature médicale qui existe sur ce sujet, ne se trouvèrent pas d'accord avec les observations de Limbeck.

La malaria et les affections tuberculeuses (toujours d'après

Limbeck) ne seraient également pas accompagnées de leucocytose. Au contraire, les processus suppuratifs, l'érysipèle (Limbeck et Pée), la pneumonie croupeuse, la pleurésie, présenteraient constamment dans leur cours une augmentation considérable des leucocytes.

En général, il paraîtrait assuré que cette augmentation est d'autant plus accentuée que les proportions de l'exsudat produit sont plus considérables.

Quelles sont les modifications qui se produisent dans le nombre des leucocytes dans le sang d'un lapin affecté d'une suppuration, et quelle est la variété de leucocytes dont le nombre est modifié de préférence? tels sont les deux points du côté desquels j'ai dirigé mes recherches.

Le sang à examiner était recueilli dans la veine de l'oreille. J'ai fait la *détermination directe* du nombre des leucocytes et j'ai donné, dans ce but, la préférence à la méthode de Thoma, c'est-à-dire au mélange d'un volume de sang avec 10 volumes d'une solution aqueuse de 1 : 300 d'acide acétique. Du sang ainsi dilué il ne reste, on le sait, que les corpuscules blancs. Je mettais une goutte de la solution dans la cellule du porte-objet quadrillé du compte-globules de Thoma-Zeiss, et je procédais d'après les règles connues à la numération au moyen de l'oculaire 3 et de l'objectif 7 de Koritska. Chaque carré du compte-globules de Thoma-Zeiss a 1/400 de millimètre carré et l'épaisseur de la dilution sanguine contenue dont chaque carré est de 1/4000 de millimètre cube.

La formule g/n 4 000 (g = nombre des globules, n = nombre des carrés) donne la quantité de globules blancs contenus par millimètre cube de la dilution. La formule g/n 4 000 × 10 (10 = titre de la dilution) donne la quantité de globules blancs contenus par millimètre cube de sang pur.

Expérience XI. — Chez un lapin sain du poids de 1 1/2 kilog, je trouve 12 500 globules blancs par millimètre cube. De la manière habituelle, je produis chez ce lapin une surface sanguinolente sur l'abdomen, de la grandeur de la paume de la main, et je l'enduis d'une culture sur agar de staphylocoques pyogènes dorés. Le 3e jour, alors qu'une surface suppurante s'était établie, je

renouvelle l'examen du sang. Le nombre des corpuscules blancs était monté à 18 850. Je répète l'examen les 4ᵉ, 5ᵉ, 6ᵉ, 7ᵉ, 8ᵉ, 9ᵉ et 10ᵉ jours ; le nombre des leucocytes oscille toujours entre 18 et 19 000.

Expérience XII. — J'enlève le bandage du lapin de l'expérience précédente le 12ᵉ jour après que la suppuration s'était produite. Le lapin, comme le font d'habitude ces animaux, se lécha la surface suppurante qui se recouvrit d'une croûte et marcha rapidement vers la guérison. Pendant ce temps je renouvelai chaque jour l'examen du sang et je notai que le nombre des corpuscules blancs allait en diminuant graduellement à mesure que la suppuration guérissait. Le 30ᵉ jour, alors que la guérison était complète, les leucocytes étaient revenus au nombre ordinaire de 12 à 13 000.

Les expériences XI et XII furent répétées encore quelques fois, toujours avec le même résultat.

La conclusion que l'on peut en tirer est celle-ci : *Un lapin, porteur d'une surface suppurante, présente une leucocytose modérée, qui disparaît avec la guérison du processus suppuratif.*

A quoi est due cette leucocytose dans notre cas ? Parmi les différentes théories émises récemment sur le mécanisme de la production de la leucocytose, deux se disputent le terrain. L'une, celle de Horbaczewschi ; l'autre, celle de Löwit. La première attribuerait la genèse de la leucocytose en premier lieu à la destruction des éléments nucléaires (nucléine mise en liberté), en second lieu à l'introduction, dans la circulation, de substances diverses (antipyrine, antifébrine, pilocarpine, toxines spéciales, etc.). D'après Horbaczewschi, la leucocytose inflammatoire serait favorisée par la nucléine mise en liberté. La théorie de Löwit expliquerait le soulèvement des leucocytes par l'arrivée de substances toxiques dans le sang, dotées de propriétés leucogènes. La leucocytose ainsi produite serait, d'après Löwit, plutôt de nature réflexe qu'une conséquence directe. En détruisant les leucocytes, les substances toxiques détermineraient un notable appauvrissement du sang en corpuscules blancs. La mort des leucocytes (appelée leucolyse par Löwit) serait alors, par une action

réflexe, équilibrée par un afflux exagéré de cellules blanches des organes formateurs du sang. Cet afflux, constamment supérieur aux pertes subies par le sang, constituerait la *leucocytose transitoire.*

Dans notre cas, il me semble que la leucocytose peut mieux s'expliquer par la théorie de Löwit. Si la leucocytose est une conséquence réflexe de l'appauvrissement du sang en corpuscules blancs, quel appauvrissement plus considérable pourrait-il se produire que celui que provoque une suppuration par la soustraction continue que constitue l'exudation ?

Mais, quel que soit le mécanisme de sa production, la leucocytose par suppuration présente un caractère important qui, encore une fois, mérite d'être relevé: *les leucocytes ont une chimiotaxie négative.* L'organisme réagit contre l'appauvrissement leucocytique par une production exagérée de corpuscules blancs dans les organes producteurs, mais il ne peut pas se servir de ces éléments de défense dans une lutte locale contre un autre ennemi qui par hasard viendrait à le menacer dans un point plus ou moins éloigné au foyer morbide suppuratif.

Après la découverte que les *lymphocytes* et les *cellules éosinophiles* n'ont ni pouvoir chimio-physiotactique, ni pouvoir phagocytaire; après le travail de Hankin (*Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde*, décembre 1892), qui démontre que les granulations éosinophiles sont la substance mère des *alexines* de Buchner et, par conséquent, l'agent supposé du pouvoir bactéricide du sang, il était naturel que je pensasse à étudier non seulement le nombre des leucocytes en général, mais aussi leur nombre en particulier. En d'autres termes, comment se comportait, au point de vue de leur nombre, chacune des variétés de leucocytes dans la leucocytose provoquée par suppuration,

Pour avoir un terme de comparaison, j'ai dû commencer par examiner le sang d'un lapin sain. J'ai pu, à cette occasion, constater que l'on y trouve toutes les 4 variétés de leucocytes (lymphocytes, leucocytes éosinophiles, leucocytes mononucléaires et leucocytes polynucléaires ou cellules neutrophiles). Les neutrophiles s'y trouvent en nombre supérieur à celui des 3 autres variétés réunies. Je

conservai les préparations du sang de ce lapin. Sur le même animal je provoquai alors une suppuration, et la leucocytose une fois produite, je répétai l'examen du sang en comparant les préparations faites après la production de la suppuration avec celles qui avaient été faites avant. Je me suis servi des méthodes de coloration suivantes : une goutte de sang prise dans la veine de l'oreille est étendue entre deux couvre-objets que l'on fait sécher à la température ordinaire après les avoir séparés. Les couvre-objets ainsi préparés sont placés pour quelques minutes dans une solution alcoolique saturée d'éosine, que l'on chauffe jusqu'à la production de vapeurs. Après avoir rapidement lavé la préparation dans l'eau et l'avoir séchée avec un morceau de papier à filtrer, on la met dans un verre de montre et on chauffe quelques secondes sur la flamme. On colore alors pendant une 1/2 minute dans une solution à moitié saturée de bleu de méthylène ou d'hématoxyline. Enfin, après un lavage rapide dans l'eau courante, on laisse bien sécher pour monter dans le baume. C'est la méthode de Kanthak, que j'ai modifiée dans ce sens que je me passe de l'étuve. En examinant la préparation avec un système à immersion, on voit clairement les cellules éosinophiles avec leurs granulations teintes fortement en rouge et le noyau en bleu. Les lymphocytes et les autres variétés de leucocytes se voient colorés en bleu vif, sans que l'on puisse distinguer aucune structure.

Je traitai aussi un autre couvre-objet préparé de la même façon, avec un mélange de 5 volumes d'une solution saturée de fuchsine acide avec 1 volume d'une solution saturée concentrée de bleu de méthylène et 5 volumes d'eau distillée. Les cellules neutrophiles montrent alors leurs granulations teintes en bleu violet.

D'autres couvre-objets, préparés comme il est dit ci-dessus, étaient traités avec diverses couleurs recommandées pour l'étude des granulations basophiles.

Or, en comparant les préparations du même lapin, faites avant et après la suppuration et en répétant cette expérience quelquefois sur plusieurs lapins différents, j'ai noté que l'augmentation des leucocytes se produit spécialement chez les cellules mono et polynucléaires.

Ainsi, la leucocytose chez le lapin affecté de suppuration, si elle ne sert pas à la lutte contre un ennemi au point où celui-ci est inoculé, sera certainement une arme contre celui-ci quand il pénétrera dans la circulation; mais, dans cette lutte tardive, l'organisme a généralement moins de probabilités de victoire. Si les cellules mono et polynucléaires augmentent de nombre, ce fait doit avoir sa raison d'être, qui se trouve probablement dans leur pouvoir physiotactique et phagocytaire dont l'organisme bénéficie pour son auto-défense.

III

Le rapport intime qu'Hankin dit avoir trouvé entre les modifications de la leucocytose et celles du pouvoir bactéricide du sang, m'a engagé, après avoir terminé mes recherches sur la leucocytose suppurative, à étudier ce pouvoir bactéricide du sang chez des lapins affectés de suppuration. Pour Hankin, les *alexines* de Buchner sont séparées des granulations éosinophiles; mais, comme le sang devrait ses propriétés bactéricides aux *alexines*, dans la théorie de Fodor sur l'immunité les cellules éosinophiles représenteraient ainsi la partie principale, si ce n'est même le seul facteur de l'auto-défense de l'organisme. Et comme il résulte de mes préparations que les leucocytes éosinophiles sont rares dans la leucocytose, l'étude du pouvoir bactéricide me paraît encore plus intéressante au double point de vue de l'influence que pourrait exercer sur lui la suppuration et du rapport qu'il pourrait avoir avec les cellules éosinophiles.

La technique dont je me suis servi pour les recherches sur le pouvoir bactéricide du sang est celle de Buchner, modifiée par de Giaxa et Guarnieri (V. ces *Annales*, 1891, p. 475 et 545). Tout l'appareil destiné à recueillir le sang consiste en un petit bocal à large embouchure, muni d'un bouchon rodé et contenant 2 à 3 grammes de perles de

verre. On enlève le bouchon, on le remplace par de la ouate traversée par un tube de verre recourbé à sa sortie du récipient en angle droit et étiré en pointe au bout. Toute la partie du tube qui se trouve à l'extérieur est protégée par un tube à essai. Le récipient ainsi préparé est porté à 50° et on stérilise en même temps le bouchon rodé dans une boîte de verre.

Après avoir mis à nu la carotide d'après toutes les règles de l'asepsie, on y introduit la pointe du tube de verre et on laisse couler dans le bocal 15 à 20 cmc. de sang. A ce moment on enlève rapidement le tampon de ouate avec le tube de verre et on ferme le bocal de verre avec le bouchon rodé. On agite vivement le sang pendant un quart d'heure et toute la fibrine se coagule autour des perles de verre. Avec une pipette stérilisée on aspire le sérum et on le répartit dans 3 à 4 tubes que l'on ensemence de suite avec une culture de staphylocoques pyogènes dorés diluée dans des proportions variées avec de l'eau distillée et stérilisée. Après avoir également réparti les microorganismes dans la masse liquide on en fait des plaques dans des boîtes de Pétri, puis après 1, 3, 6 et 24 heures on fait de nouvelles plaques. Les plaques étaient faites avec de l'agar et tenues à 37°. Le jour suivant on faisait le dénombrement des colonies crues sur chaque plaque. Les tableaux suivants résument les résultats.

1. — *Lapin du poids de* 1 1/2 *kilogramme, porteur d'une surface suppurante sur l'abdomen de* 5 *centimètres carrés et datant de* 5 *jours.*

NOMBRE DES TUBES ensemencés	NOMBRE DES COLONIES DE STAPH. PYOG. AUREUS				
	DE SUITE APRÈS l'ensemencement	APRÈS 1 heure	APRÈS 3 heures	APRÈS 6 heures	APRÈS 24 heures
1	90	48	35	10	innombr.
2	110	54	40	20	»
3	150	98	85	36	»

2. — *Lapin sain du même poids que le précédent.*

NOMBRE DES TUBES ensemencés	NOMBRE DES COLONIES DE STAPH. PYOG. AUREUS				
	DE SUITE APRÈS l'ensemencement	APRÈS 1 heure	APRÈS 3 heures	APRÈS 6 heures	APRÈS 24 heures
1	80	35	28	6	innombr.
2	125	70	48	25	»
3	116	89	36	15	»

3. — *Lapin du poids de* 1 300 *grammes, porteur, sur l'abdomen, d'une surface suppurante de* 5 *centimètres carrés datant de* 15 *jours.*

NOMBRE DES TUBES ensemencés	NOMBRE DES COLONIES DE STAPH. PYOG. AUREUS				
	DE SUITE APRÈS l'ensemencement	APRÈS 1 heure	APRÈS 3 heures	APRÈS 6 heures	APRÈS 24 heures
1	10	8	5	0	0
2	89	56	31	18	innombr.
3	105	81	25	10	»

4. — *Lapin sain du même poids que le précédent.*

NOMBRE DES TUBES ensemencés	NOMBRE DES COLONIES DE STAPH. PYOG. AUREUS				
	DE SUITE APRÈS l'ensemencement	APRÈS 1 heure	APRÈS 3 heures	APRÈS 6 heures	APRÈS 24 heures
1	15	12	4	0	0
2	78	41	20	15	innombr.
3	112	81	23	30	»

Avant tout je relève un fait déjà noté par les professeurs de Giaxa et Guarnieri, savoir : que si l'on ensemence un petit nombre de staphylocoques, ceux-ci sont déjà détruits à partir de la 6e heure et cela entièrement. Mais il résulte encore des tableaux qui précèdent qu'il n'y a pas de diffé-

rence marquée entre le pouvoir bactéricide du sang du lapin affecté de suppuration et celui du lapin sain. Une surface suppurante n'exercerait donc aucune action sur le pouvoir bactéricide du sang. L'organisme affecté d'une suppuration réagirait donc seulement par son pouvoir phagocytaire local et général, local grâce aux leucocytes qui se portent en foule au lieu de la lésion, et général par le moyen des leucocytes mono et polynucléaires qui augmentent de nombre dans le torrent circulatoire.

Cette conclusion rapprochée du fait que dans la leucocytose suppurative les cellules éosinophiles se trouvent en petit nombre pourrait faire admettre qu'il n'existe aucun rapport entre le pouvoir bactéricide du sang et les granulations éosinophiles. Par conséquent, l'hypothèse de Hankin, déjà combattue par d'autres, ne trouverait aucun appui dans le résultat de mes recherches. D'autres travaux sur la leucocytose arriveraient au même résultat que mes recherches. Ehrlich (*Zeitschrift für Klin. Med.*, I, p. 560, 1880) conclut que dans toutes les leucocytoses aiguës seules les formes mono et polynucléaires augmentent de nombre, tandis que les leucocytes à granulations éosinophiles paraissent, par conséquent, devenir relativement moins nombreuses et qu'une augmentation des cellules éosinophiles indiquerait une altération chronique des organes formateurs du sang. Le pouvoir germicide du sang devrait donc résider plutôt dans une autre des parties constituantes du sang et l'on devrait pour l'expliquer recourir à une autre des si nombreuses hypothèses qui se disputent le terrain.



Conclusions

Des recherches exposées on peut déduire :

1° Qu'une surface suppurante affaiblit, à partir d'une certaine distance de ses propres limites, les propriétés physio-chimiotactiques des leucocytes ;

2° Que la suppuration peut diminuer partiellement la

résistance de l'organisme contre un autre microorganisme infectieux qui l'attaque en un point plus ou moins éloigné du processus suppuratif ;

3° Que l'organisme réagit contre l'appauvrissement du sang en corpuscules blancs par une leucocytose ;

4° Que cette leucocytose n'exerce aucune influence sur le pouvoir microbicide du sang.

Je suis heureux d'exprimer ici toute ma reconnaissance à M. le professeur de Giaxa, dont les conseils m'ont été de la plus grande utilité.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA FERMENTATION AMMONIACALE
ET DES FERMENTS DE L'URÉE
UROBACILLUS SCHUTZENBERGII β

Par R. CAMBIER
LICENCIÉ ES-SCIENCES
MICROGRAPHE ADJOINT A L'OBSERVATOIRE DE MONTSOURIS

Au cours de recherches ayant pour but l'étude des produits de dédoublement et d'hydratation des matières albuminoïdes sous l'influence de quelques espèces microbiennes cultivées à l'état de pureté, nous avons eu l'occasion d'étudier un organisme possédant la propriété d'hydrater l'urée en la transformant en carbonate d'ammonium. La description des propriétés morphologigues et physiologiques de cet organisme, qui se différencie nettement des nombreuses espèces urophages connues jusqu'à ce jour, fera l'objet du présent Mémoire.

Origine ; méthodes de séparation et de culture. — L'organisme, dont nous nous proposons de décrire les propriétés, et que, pour plus de commodité, nous appellerons dorénavent *Urobacillus Schutzenbergii* β, a été rencontré dans une fermentation putride d'albumine d'œuf cuite, amorcée avec quelques gouttes d'eau du canal de l'Ourcq. Une petite quantité de cette culture putride fut prélevée à l'extrémité d'un fil de platine flambé, puis diluée dans un litre d'eau stérilisée. Une goutte de cette dilution fut alors ensemencée dans quelques centimètres cubes de gélatine nutritive, et le tout versé dans une boîte de Petri. Dès le lendemain, on vit apparaître d'assez nombreuses colonies isolées dont quelques-unes liquéfient le *substratum* de gélatine. L'une de ces colonies liquéfiantes, presque entièrement

formée par l'organisme en question, est soumise à trois ou quatre purifications en suivant la méthode qui vient d'être décrite ; on n'a plus alors affaire qu'à des colonies pures d'un bacille qui présente les caractères suivants :

Morphologie de l'*Urobacillus Schutzenbergii* β. — Le bacille cultivé sur bouillon se présente sous forme de petits bâtonnets cylindriques flexibles, de 3 à 5 μ de long sur 0,6 μ de large, facilement colorables par le rouge de Ziehl et par le bleu de Loëffler, ne se colorant pas par le procédé de Gram ; ils paraissent dépourvus de spores endogènes.



A, Culture sur bouillon de l'*Urobacillus Schutzenbergii* β (Culture jeune de 1 jour). — B, Culture sur bouillon de l'*Urobacillus Schutzenbergii* β (Culture vieille de 20 jours). — C, Culture de l'*Urobacillus Schutzenbergii* β sur gélatine.

Les bacilles cultivés sur bouillon sont très mobiles, ils sont animés d'un rapide mouvement de giration autour de leur centre. Les bacilles cultivés sur gélatine s'allongent considérablement, en même temps que leur mobilité tend à disparaître. On peut, du reste, aisément faire passer ce bacille d'une forme à l'autre en le cultivant alternativement sur gélatine et sur bouillon. Les vieilles cultures sur bouillon présentent des filaments à peine mobiles, en voie de scissiparisation.

L'*Urobacillus Schutzenbergii* β croît aussi très bien sur agar-agar à la température du corps humain.

Aspect macroscopique des cultures. — 1° *Gélatine peptonisée.* — Les cultures ensemencées par piqûres se développent rapidement à la température de 20°. La gélatine se creuse en entonnoir autour du point d'inoculation et est totalement liquéfiée en 24 heures. Le liquide qui en résulte est clair, à peine visqueux, et présente au fond un léger dépôt de microorganismes.

2° *Gélatine-peptone chargée de 20 grammes d'urée*

par litre. — La culture est assez semblable à la précédente. Dès que l'organisme commence à se développer, on perçoit une odeur ammoniacale assez prononcée ; la gélatine est promptement liquéfiée, le dépôt blanc qui se ramasse au fond du liquide est très abondant.

3° *Bouillon de peptone.* — Le bouillon se trouble très rapidement et reste trouble indéfiniment.

4° *Bouillon de peptone chargé de* 20 *grammes d'urée par litre.* — Le développement de l'espèce y est très rapide.

Le bouillon se charge de carbonate d'ammoniaque. Au bout d'environ quatre jours la fermentation s'arrête, et le bouillon devient absolument limpide. Le dépôt blanc qu'on observe au fond des vases est constitué par les corps des bacilles mélangés d'un grand nombre de petits cristaux microscopiques, sphériques, associés par deux, assez semblables à des haltères. Ces cristaux, complètement insolubles dans l'eau, se dissolvent avec facilité dans l'acide nitrique dilué en dégageant de l'anhydride carbonique. La solution azotique précipite abondamment en blanc par l'ammoniaque et en jaune par le réactif nitromolybdique. Il est donc probable que ces cristaux sont produits par la précipitation lente, par l'ammoniaque, des phosphates et des carbonates de chaux contenus dans le bouillon de peptone.

5° *Agar-agar à la température de* 37°. — Ces cultures ensemencées par stries se développent en moins de 24 heures. On observe à la surface de l'agar une pellicule blanche, nacrée, s'écartant peu de la strie d'ensemencement. Le *substratum* n'est pas liquéfié.

Résistance a la chaleur. — Pour déterminer ce facteur, on dilue 10 gouttes d'une culture sur bouillon dans 10 centimètres cubes d'eau stérilisée, et l'on emplit avec ce mélange quelques petites ampoules flambées, dont les extrémités, étirées en longues pointes, sont scellées à la lampe après remplissage. Ces ampoules sont ensuite complètement immergées pendant 2 heures dans des bains à température constante, puis leur contenu est ensemencé dans du bouillon nutritif.

Résistance de l'Urobacillus Schutzenbergii β *à la chaleur*

TEMPÉRATURE	NOMBRE D'AMPOULES CHAUFFÉES	CAS DE FERMENTATION OBSERVÉS
60°	5	0
59°	5	0
47°,5	5	2
45°	5	5

Ainsi, à la température de 47°, sur 5 ampoules mises en expérience, deux seulement se montrent fécondes. Cette température semble donc être déjà funeste à notre microbe.

Fonctions physiologiques. — 1° *Action liquéfiante sur la gélatine.* — *L'Urobacillus Schutzenbergii* β liquéfie très promptement la gélatine additionnée ou non d'urée. Pour déterminer la rapidité de cette liquéfaction, nous avons fait au centre d'une plaque de gélatine une piqûre avec la pointe d'un fil de platine flambé, chargé d'une petite quantité de culture, et nous avons mesuré de temps en temps le diamètre du cercle de liquéfaction.

4 juillet à midi. —	Diamètre du cercle	de liquéfaction.	0 cent.
5 juillet à midi. —	»	»	5 »
» 3 h. —	»	»	7 »
» 5 h. —	»	»	8 »

Ces nombres vérifient sensiblement l'équation d'un mouvement uniformément accéléré $e = \frac{1}{2} vt^2$, c'est-à-dire que les diamètres des cercles de liquéfaction croissent proportionnellement aux carrés des temps. En supposant, pour plus de simplicité, le mouvement uniforme, nous voyons que le diamètre s'accroît d'environ 0,8 μ par seconde, phénomène parfaitement observable sous le microscope.

2° *Action sur l'urée.* — Lorsqu'on cultive l'*Urobacillus Schutzenbergii* β dans des milieux nutritifs chargés de 20 grammes d'urée par litre (c'est à peu près la teneur de l'urine normale), il se développe très rapidement une odeur ammoniacale assez prononcée.

Pour étudier la marche de l'hydratation de la carbamide, nous avons fait usage d'un matras identique à celui qui a servi à M. Miquel (1) pour ses expériences sur les ferments ammoniacaux.

Voici les résultats de quelques expériences :

Expérience I. — *Bouillon de peptone contenant* 20 *grammes d'urée par litre, stérilisé à* 110°, *ensemencé le* 22 *juin.*

22 juin :	Alcalinité	correspondant	à 1 gr 428	d'urée	hydratée	par litre.
23 juin :	»	»	à 5 712		»	»
24 juin :	»	»	à 10 014		»	»
26 juin :	»	»	à 11 781		»	»
27 juin :	»	»	à 11 930		»	»

Expérience II. — *Bouillon de peptone contenant* 20 *grammes d'urée par litre, ensemencé le* 3 *juillet.*

3 juil. :	Alcalinité	correspondant	à 1 gr 785	d'urée	hydratée	par litre.
4 juil. :	»	»	à 5 712		»	»
5 juil. :	»	»	à 10 353		»	»
6 juil. :	»	»	à 10 413		»	»

Expérience III. — *Bouillon de peptone contenant* 20 *grammes d'urée par litre, ensemencé le* 9 *juillet.*

9 juil. :	Alcalinité	correspondant	à 1 gr 071	d'urée	hydratée	par litre.
10 juil. :	»	»	à 5 355		»	»
11 juil. :	»	»	à 9 996		»	»
11 juil. :	»	»	à 12 531		»	»
12 juil. :	»	»	à 12 712		»	»

Tous ces chiffres ont été déterminés en dosant le carbonate d'ammoniaque formé au moyen d'une solution titrée d'acide sulfurique, en prenant la teinture de cochenille comme indicateur.

On voit à l'inspection de ces chiffres que l'*Urobacillus Schutzenbergii* β est capable de produire la fermentation incomplète de l'urée. La fermentation s'arrête généralement au bout de 4 jours lorsque le bouillon contient les produits d'hydratation d'environ 11 gr. 5 d'urée en moyenne,

---

(1) Voyez *Annales de micrographie*, t. I, 1888 ; p. 509.

soit 16 gr. 8 de carbonate d'ammonium, la fermentation marchant à raison de 4 grammes d'urée par vingt-quatre heures. Quand la fermentation est terminée, le bouillon se clarifie, et le bacille est irrévocablement tué.

Distinction de l'Urobacillus Schutzenbergii β *d'avec les autres espèces urophages.* — Nous terminerons ce travail en indiquant sous forme de tableau résumé les principaux caractères qui différencient l'*Urobacillus Schutzenbergii* β de l'espèce urophage la plus voisine, et qui a été décrite dans ces *Annales* par M. le Dr Miquel (1) sous le nom d'*Urobacillus Schutzenbergii* α.

UROBACILLUS SCHUTZENBERGII α DÉCRIT PAR M. MIQUEL	UROBACILLUS SCHUTZENBERGII β
Articles ovales longs de 1 μ, larges de 0,5 μ.	Bacilles cylindriques de 3 à 5 μ de long.
Les cultures sur bouillon présentent une pellicule grimpant le long des parois verticales du vase.	Les cultures sur bouillon ne présentent pas de pellicules.
Fluidifie lentement la gélatine peptone, mais ne fluidifie pas la gélatine chargée d'urée.	Liquéfie rapidement en 24 h. la gélatine additionnée ou non d'urée.
Cultures sur gélose s'étendant en surface, possédant une couleur verdâtre.	Cultures sur gélose s'écartant peu de la strie d'ensemencement; pas de coloration verte.
Quantité maximum d'urée fermentée : 14 grammes (cette quantité n'est jamais inférieure à 13 grammes).	Quantité maximum d'urée fermentée: 10 gr. 5 (cette quantité n'est jamais supérieure à 13 grammes).
Température critique : 42°.	Température critique : 47°,5.
Sécrétion de *diastase* très active (urase), capable d'hydrater 35 grammes d'urée par heure.	Sécrétion de *diastase* très peu active, capable d'hydrater 3 grammes d'urée par heure.

L'*Urobacillus Schutzenbergii* β possède, en outre, la propriété d'hydrater la molécule albuminoïde; nous reviendrons sur ce point dans une communication ultérieure.

(1) Voyez *Annales de micrographie*, t. IV, p. 58.

DE LA TRICOPHYTIE CHEZ L'HOMME (1)

PAR

R. SABOURAUD

Mes premières recherches, qui s'appuient en ce moment sur l'examen de plus de cent malades, ont porté sur l'examen microscopique des cheveux de teigneux. Elles m'ont prouvé :

1° Que la dimension des spores tricophytiques était identique en tous les points malades d'une même tête, mais différait souvent d'un cas à l'autre ;

2° Que certains cas présentaient une petite spore (3 μ), et d'autres, une grosse spore (7 ou 8 μ) ;

3° Que la petite spore n'était pas reliée à un mycélium visible et que ses agglomérations, disposées sans ordre, remplissaient le cheveu (2) et même débordaient son enveloppe pour lui former une sorte de gaine externe ;

4° Que les grosses spores avaient, au contraire, un mycélium visible, et étaient ordonnées en files distinctes dans autant de rameaux mycéliens ; enfin que ces rameaux étaient tous inclus dans le cheveu, sans lui constituer de gaine enveloppante. Le cheveu ainsi atteint ressemble extrêmement au cheveu de la *teigne faveuse ;*

5° Que, dans les cas de contagion d'école ou de famille, la spore gardait sur chaque individu contaminé ses mêmes dimensions ; petites si la contagion provenait d'une tricophytie à petites spores, grosses dans le cas contraire ;

6° Que dix-neuf fois sur vingt cas de teigne *cliniquement*

---

(1) Étude faite dans le service de M. le Dr E. Besnier, à l'hôpital Saint-Louis (*Comptes rendu de l'Académie des Sciences*, t. CXV, p. 1326).

(2) L'examen microscopique du cheveu se fait après ébullition dans une solution potassique à 40 pour 100.

rebelle, ces tricophyties étaient causées par le tricophyton à petites spores, engainant le cheveu et sans mycélium visible.

La statistique des teignes tondantes montre une proportionnalité de 60 p. 100 de teignes à petites spores et 40 p. 100 de teignes à grosses spores.

Les recherches bactériologiques poursuivies simultanément ont confirmé ces différences microscopiques, à ce point que l'on peut affirmer d'avance, par l'examen extemporané des cheveux, quelle culture ils donneront.

α. Le tricophyton à grosses spores fournit sur la gélose au moût de bière une culture d'abord duveteuse et blanche, qui devient farineuse et jaune après 15 ou 18 jours ; sur la pomme de terre, une culture aride d'emblée et d'un jaune brun. Sur tous milieux, la culture *adulte* garde son aspect aride, poudreux, et sa couleur d'un jaune brun assez pâle.

β. Le tricophyton à petites spores prend un peu plus tard que le précédent, ses caractères de duvet, *mais il les garde toujours sur tous milieux*, et ce duvet reste d'un blanc pur. Sur la pomme de terre, l'apparition du duvet est précédée, pendant une douzaine de jours, par la formation d'une tache rouge brun, ressemblant à du sang desséché.

Jamais, dans la série de ces cent malades, aucun cas n'a présenté de cultures d'aspect intermédiaire. Jamais une culture de l'un des types n'a pu être ramenée au type opposé.

Tous les cas de tricophytie de la barbe, au nombre de six (6), et tous les cas de tricophytie cutanée des régions glabres, au nombre de 23, se sont montrés sans exception dus au tricophyton à *grosses spores*.

De ces faits peuvent découler une foule de déductions cliniques, en dehors même de la plus frappante, la coexistence des teignes rebelles avec le parasite à petites spores. Dans la tricophytie humaine, il n'y a qu'un type, la teigne à grosses spores, qui puisse s'accompagner d'auto-inoculations ou de contagions de tricophytie circinée, ou produire, par contagion à l'homme, la tricophytie de la barbe. Le seul fait de ces contaminations permet ainsi de porter à distance le diagnostic de tricophytie à grosses spores. La tricophytie à petites spores ne paraît contagieuse que pour

les cheveux et, par conséquent, pour les enfants, seuls sujets à la teigne tondante.

Et comme, parmi les teignes tondantes, la majorité des cas est causée par le parasite à petites spores, on peut dire que, dans la majorité des cas, la tricophytie des cheveux de l'enfant n'est aucunement contagieuse pour l'adulte.

Ces deux formes parasitaires, à grosses spores et à petites spores, essentiellement distinctes l'une de l'autre, indiquent donc que l'entité morbide considérée jusqu'ici comme univoque sous le nom de *tricophytie* n'est qu'un syndrôme que peuvent causer plusieurs parasites différents. De plus, ces deux formes semblent être non pas deux espèces, mais deux groupes d'espèces, car par la culture sur le moût de bière en dilution au 1/5 et au 1/10 on rend évidentes, entre les cas, des dissemblances persistantes et héréditaires qui ne sont pas manifestes dans les cultures sur d'autres milieux. Le nombre de ces espèces paraît considérable sans qu'on puisse encore le chiffrer.

Les tricophyties des régions glabres en particulier présentent une diversité de parasites très tranchée, bien que leurs cultures se rattachent toutes au type du tricophyton à grosses spores ou *megalosporon*. Plusieurs de ces variétés sont d'origine animale : ainsi j'ai pu retrouver sur l'homme le tricophyton du cheval, du veau, du chien et du coq, peut-être celui du chat. La tricophytie du cheval avait produit sur l'homme, le plus souvent, la lésion connue sous le nom de *folliculite agminée tricophytique*.

Il est difficile de décider encore, dans le grand nombre de ces formes parasitaires, celles qui sont absolument fixées dans leurs caractères et qui méritent le nom d'espèces, et celles, au contraire, qui pourront être reversibles à un type original et ne sont que des variétés.

Tous ces types, sauf peut-être le tricophyton *microsporon* des cheveux de l'homme, dont la nature botanique n'est pas hors de doute, sont des *mucédinées*, dont la forme de fructification (hyphe sporifère et spore externe) est presque identique à celle des Botrytis.

Les tricophytons doivent donc être rattachés à cette famille dont plusieurs types parasitaires sont déjà connus, tels que le *Botrytis tenella* et le *Botrytis bassiana*.

En ce qui concerne le tricophyton à petites spores, les inoculations à l'homme, sur la peau glabre, ne provoquent qu'un érythème léger suivi d'exfoliation épidermique par larges squames. L'évolution se termine par la guérison spontanée.

En ce qui concerne le tricophyton à grosses spores, les inoculations provoquent pour toutes les espèces qui ont été isolées, mais avec d'assez nombreuses inoculations négatives, la tricophytie circinée commune, sans que les espèces puissent se distinguer entre elles au seul aspect de la lésion et sans que la variété du parasite, extraite des folliculités tricophytiques, ait reproduit cette forme de tricophytie dans les inoculations expérimentales.

REVUES ET ANALYSES[1]

L. Bouveault. — Études chimiques sur le bacille de la tuberculose aviaire (*Thèse de la Faculté de médecine, 1892*)

Dans ce travail effectué plutôt au point de vue chimique que bactériologique, l'auteur s'est proposé de rechercher quelles modifications le bacille de la tuberculose aviaire faisait subir aux milieux au sein desquels on le cultive. Il a choisi comme terrain nutritif le bouillon obtenu en portant à l'ébullition pendant 4 à 5 heures un kilogramme de viande de veau soigneusement privée de graisse et d'aponévroses, avec 1 litre 1/2 d'eau, filtrant le liquide refroidi sur une toile mouillée et additionnant le filtratum de 12 grammes de peptone, 20 grammes de sucre et 60 grammes de glycérine; neutralisant avec du carbonate de sodium et portant le tout sur un bain-marie pendant 5 heures, filtrant, complétant à 1 litre et stérilisant à l'autoclave à 120°.

Ce bouillon a été partagé en 2 parties égales; dans l'une d'elles on a ensemencé le bacille à l'état de pureté, et, après une culture d'une quarantaine de jours, les deux fractions ont été soumises à une analyse immédiate quantitative aussi exacte que possible. Il est évident que les différences entre les chiffres trouvés représentent les modifications apportées au bouillon par le microorganisme. Nous n'entrerons pas dans les détails de ce long travail, nous indiquerons seulement les conclusions :

1° La destruction des matériaux fixes du bouillon atteint presque la moitié du résidu fixe total;

2° Comme aliment non azoté, le bacille consomme presque exclusivement de la glycérine et est presque sans action sur le sucre de canne;

3° Pour ce qui est des aliments azotés, on peut dire que les divers produits sont d'autant plus facilement assimilés par le bacille que l'ammoniaque ou une amine peut en être facilement dégagée.

Ainsi, dans le bouillon cultivé, on ne trouve plus trace de sels ammoniacaux, de créatine, de créatinine, substances susceptibles de dégager de l'ammoniaque sous des influences hydratantes faibles ; tandis que d'autres substances plus solides comme la sar-

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

cine, la gélatine, la peptone, restent presque complètement inattaquées. R. Cambier.

A. Stutzer. — **Expériences sur l'action de solutions très diluées d'acide sulfurique, sur les conduites d'eau en vue d'y détruire les bactéries du choléra** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIX, p. 116).

Dans de précédentes expériences, M. Stutzer avait déjà démontré que les bacilles cholériques meurent en 1/4 d'heure dans une eau additionnée de 0,05 p. 100 d'acide sulfurique libre. En répétant ces expériences, l'auteur arriva aux mêmes résultats, et il se demanda si ce moyen pourrait peut-être être employé pour la désinfection de conduites d'eau qui auraient été infectées par le bacille cholérique. On se heurte toutefois ici à une difficulté. La chaux, magnésie, etc., que contiennent les eaux potables ainsi que les dépôts de carbonate de chaux qui se forment dans les tuyaux peuvent neutraliser une partie de l'acide. En effet, en remplissant de tels tuyaux d'eau et en ajoutant à celle-ci même 2 p. 100 d'acide sulfurique, M. Stutzer constata qu'après 8 et 24 heures l'eau a tellement perdu d'acide que si l'on y introduit des bacilles virgules, ceux-ci peuvent y vivre. Cependant, l'action d'une eau additionnée de 2 p. 100 d'acide sulfurique sur ces microorganismes est immédiate ; en ayant donc soin de choisir cette dilution et non pas une plus faible qui agirait plus lentement et qui, par conséquent, aurait le temps d'être neutralisée avant d'avoir exercé son action bactéricide, on peut espérer tuer presqu'instantanément les bacilles cholériques contenus dans l'eau. D'autre part, l'auteur s'est assuré que dans cette concentration l'acide sulfurique n'abîme pas les conduites d'eau. L'auteur ne s'est occcupé que du côté chimique et bactériologique de la question. Il y aurait donc lieu d'examiner encore si des difficultés d'ordre technique ne s'opposeront pas à l'emploi de ce mode de désinfection.

E. F.

A. Stutzer et R. Burri. — **Recherches sur les bactéries du choléra asiatique** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIV, p. 9).

Il y a quelque temps, M. Dahmen (v. ces *Annales*, tome IV, p. 289) a montré que pour rechercher avec succès le bacille virgule dans les selles cholériques il est nécessaire d'employer une gélatine alcaline. Il recommandait à cet égard une gélatine additionnée de 1 p. 100 de soude cristallisée ($Na_2CO_3 . 10H_2O$), ce qui correspond à 0,37 p. 100 de carbonate de soude (Na_2CO_3). Même avec 0,74 p. 100 de carbo-

nate de soude on obtiendrait encore une croissance abondante des bacilles virgules. En répétant les expériences de M. Dahmen avec une culture que celui-ci leur avait remise et avec une culture provenant de Hambourg, les auteurs furent très étonnés d'obtenir des résultats contraires. Dans une gélatine contenant 0,3 p. 100 de carbonate de soude, ces bactéries ne croissaient, en effet, plus du tout ou mal.

Par contre, en employant des cultures fraîches provenant d'un cas récent de choléra, ils obtinrent de nouveau des résultats absolument conformes à ceux annoncés par M. Dahmen. Il résulte donc de ceci que les bactéries cholériques qui ont été cultivées longtemps sur des milieux artificiels perdent la résistance qu'elles possèdent à l'égard des alcalis quand elles viennent de quitter le corps humain. C'est donc surtout quand il s'agit d'isoler des fèces ou d'une eau contaminée les bacilles du choléra qu'il sera utile d'alcaliniser la gélatine dans les proportions indiquées. Le mieux est, d'après les auteurs, d'avoir une gélatine absolument neutre à laquelle on ajoute, avant de l'employer, autant d'une dissolution stérilisée de carbonate de soude qu'il en faut pour donner la teneur voulue en alcali.

Les auteurs étudient encore dans leur Mémoire l'action de l'acide sulfurique et de l'acide phosphorique sur les bactéries du choléra. Il suffit de 0,03 p. 100 d'acide sulfurique et de 0,05 — 0,08 d'acide phosphorique pour les tuer en une heure. Ils recommandent, en conséquence, comme désinfectant des selles cholériques, l'acide sulfurique dans la proportion par exemple de 5 p. 100, ce qui tuerait rapidement les bactéries du choléra.

E. F.

Dr F. Lafar. — **Études physiologiques sur la fermentation acétique et la fabrication du vinaigre** (*Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, XIII, p. 684).

M. Lafar auquel on doit déjà d'importants travaux (V. notre analyse de son Mémoire sur les bactéries du beurre, dans le tome IV de ces *Annales*, p. 254), a commencé récemment une série de recherches sur la fermentation acétique dont il nous donne les prémices dans le *Centralblatt für Bakteriologie*, recherches qui fourniront sans nul doute des résultats nouveaux et inattendus. Un premier fait ressort de ce travail préliminaire, c'est que la fermentation acétique, comme la fermentation lactique, comme celle de l'urée et d'autres encore, n'est pas l'œuvre d'un seul microorganisme comme on l'avait cru au début, mais qu'au contraire de nombreux microbes jouissent probablement de cette faculté.

On parlait autrefois, après les brillants travaux de M. Pasteur, du *Mycoderma aceti*, comme on a parlé plus tard du *Bacillus acidi lactici* ou du *Micrococcus ureæ*. En ce qui concerne la fermentation de l'urée, M. Miquel a montré dans ses études sur les ferments de l'urée que ceux-ci sont légion, de même que ceux qui étudient le lait et ses microbes découvrent tous les jours de nouvelles espèces susceptibles de faire fermenter le sucre du lait. Il en sera de même pour la fermentation acétique, et, à mesure qu'on l'étudiera mieux, on découvrira que le nombre des espèces microbiennes auxquelles la nature a confié cette fonction est des plus considérables.

Dans sa première étude, dont une partie est consacrée à l'historique des travaux de Kützing, Turpin et Pasteur, M. Lafar montre qu'il existe, en outre des espèces bactériennes, au moins une levure capable de produire une fermentation acétique. L'auteur l'a trouvée dans une bière qui était atteinte d'une fermentation acide.

L'étude morphologique de cette levure et sa classification feront l'objet d'un travail ultérieur; pour le moment, M. Lafar s'est borné à déterminer ses fonctions physiologiques. Cette levure fut cultivée dans la bière stérilisée, et on put y constater régulièrement la production d'une fermentation acétique. Le maximum d'acide acétique produit dans 92,6 cmc. de liquide de culture fut de 1,19 p. 100. Le lecteur trouvera dans les tableaux annexés au travail de M. Lafar le détail de ses expériences. Nous voulions, dans cette brève notice, attirer surtout l'attention sur la multiplicité des ferments acétiques.

E. F.

G. Gabritschewsky et E. Maljutin. — **Sur les propriétés nocives du bacille du choléra à l'égard d'autres bactéries** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 780).

Partant du fait que le bacille cholérique se trouve souvent dans le choléra presque à l'état de pureté dans l'intestin, les auteurs se sont demandés si cela ne proviendrait pas peut-être d'un antagonisme du bacille virgule à l'égard des bactéries de l'intestin, et, en particulier, du *Bacterium coli commune*. Ils trouvèrent, en effet, que ce dernier croît mal dans des cultures stérilisées à 60°-70° du bacille virgule, surtout dans les cultures sur gélatine. Ainsi, tandis que dans une gélatine à 3 p. 100 ensemencée avec 490 *Bacterium coli commune* par 0,1 cmc., le nombre de ces derniers avait passé en 48 heures à 56 800 000 000 et après 96 heures à 412 600 000 000 par 0,1 cmc., il n'était dans de la gélatine ayant servi d'abord à une culture du bacille virgule, puis ensuite stérilisée et ensemencée avec 562 *Bacterium coli commune* par 0,1 cmc., que de 6 000 000

apres 48 heures et de 534 600 000 après 96 heures. Les auteurs constatèrent un antagonisme semblable entre le bacille virgule, d'une part, et la bactéridie charbonneuse, le bacille pyocyanique et le bacille typhique, d'autre part. On se rappelle peut-être que j'étais arrivé à des résultats analogues (voir tome II de ces *Annales*, p. 1) pour le bacille typhique et la bactéridie charbonneuse. Par contre, dans mes expériences, le bacille pyocyanique avait bien crû dans les cultures filtrées à la bougie de porcelaine du bacille cholérique. Peut-être cette différence tient-elle à ce que MM. Gabritschewsky et Maljutin employaient des cultures sur gélatine qui, d'après eux, seraient plus propices que le bouillon à la production des substances antagonistes.

Les auteurs seraient même arrivés, par l'injection sous-cutanée de cultures cholériques à conférer à des souris l'immunité contre le charbon (0,5 d'une suspension dans du bouillon d'une culture sur agar, stérilisée à 60° pendant 1/4 d'heure). Ces injections avaient été répétées trois fois de suite avec un intervalle d'un jour chaque fois avant l'inoculation charbonneuse.

E. F.

Dr F. Sanfelice. — **Recherches sur les microorganismes anaérobies** (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskranheiten,* XIX, p. 339).

Ainsi que le fait remarquer l'auteur, les microbes anaérobies ont, jusqu'ici, été étudiés d'une manière un peu décousue. Ceux qui avaient la bonne fortune d'en rencontrer un en faisaient une étude détaillée ; mais aucun travail d'ensemble n'est venu coordonner les résultats. C'est ce que M. Sanfelice a cherché à faire en résumant les résultats des recherches des autres auteurs et les siens propres. Une analyse un peu détaillée de ce travail ne sera peut-être pas sans intérêt pour nos lecteurs, auxquels elle évitera de longues recherches dans des recueils que l'on n'a pas toujours sous la main.

Les méthodes préconisées pour la culture des anaérobies sont très nombreuses ; cependant on peut les ramener à cinq types principaux : ou bien on éloigne l'air par la pompe à mercure (Pasteur, Joubert, Chamberland), ou bien on le remplace par un gaz indifférent (Roux, Gruber, Fraenkel, Buchner, Botkin, Hesse, Kamen), ou bien on empêche l'accès de l'oxygène par une couche épaisse d'un milieu nutritif solide (Liborius, Lüderitz), ou bien on absorbe l'oxygène par un pyrogallate alcalin (Buchner, Trambusti), ou bien enfin on chasse l'air des terrains de culture par la vapeur d'eau (Nikiforoff). Les méthodes les plus employées par l'auteur étaient les tubes d'agar bien remplis et aussi des plaques de gélatine que l'on recouvre simplement d'une plaque de verre stérilisée. Entre les

bords des deux plaques on verse encore un peu de gélatine à laquelle on a ajouté une petite quantité d'un antiseptique. On peut facilement mettre ces plaques sous le microscope pour examiner les colonies. Pour isoler et examiner les colonies dans les tubes d'agar, on chauffe légèrement le fond à la flamme, on fait tomber le cylindre d'agar sur une plaque de verre stérilisée, et on le coupe avec un couteau stérilisé en rondelles que l'on étale sur la plaque, et que l'on peut aisément examiner au faible grossissement. Un point essentiel, sur lequel M. Miquel a le premier déjà précédemment attiré l'attention, est l'emploi de milieux fraîchement stérilisés desquels tout l'oxygène dissous a été chassé ; la culture des anaérobies peut alors y réussir, même sans précautions spéciales, tandis que dans les milieux vieux de plusieurs jours l'oxygène se retrouve en quantité suffisante pour empêcher souvent le développement des anaérobies. Rappelons encore que l'on peut prévenir cet accès subséquent de l'air en recouvrant la gélatine ou l'agar d'une couche de paraffine liquide ou encore mieux du mélange de vaseline et de paraffine solide préconisé par le D[r] Miquel. Au moyen des deux méthodes indiquées, l'auteur put isoler tant les anaérobies pathogènes, que les non pathogènes.

Anaérobies pathogènes. — *Bacille de l'œdème malin* (vibrion septique de Pasteur). — Bacille plus mince que celui du charbon, de longueur très variable, à bouts arrondis. Dans des cultures de 6 à 7 jours il est en partie mobile. Les spores sont dans le milieu ou près de l'un des bouts du bacille ; elles sont ovales, très réfringentes et ne dépassent que peu les parois du corps du bacille. Sur plaques de gélatine recouvertes et tenues à 20° les colonies deviennent visibles à l'œil nu le second ou troisième jour et ressemblent à celles du *Bacillus subtilis*. En grandissant elles produisent des bulles de gaz. Sur plaques d'agar recouvertes et tenues à l'étuve, on les voit à l'œil nu, déjà après 24 heures, sous forme de points blancs et, au faible grossissement, comme un amas de fils enchevêtrés. Leur aspect est le même quand l'ensemencement a été pratiqué dans de l'agar liquéfié. Dans les tubes de gélatine, avec ou sans sucre, inoculés par piqûre, l'aspect est un peu différent. Le second ou troisième jour, on aperçoit à partir de 1 à 1,5 centimètre de la surface une bande blanchâtre le long de la piqûre, dont des ramifications latérales partent les jours suivants. Le long de la piqûre des bulles de gaz se produisent. La gélatine se fluidifie, et une masse blanchâtre se réunit au fond du tube, tandis que la gélatine qui se trouve au dessus reste limpide. Les cultures par piqûre dans l'agar n'offrent rien de caractéristique. La bacille de l'œdème malin se développe aussi bien dans les milieux acides que dans les milieux neutres ou légèrement alcalins. Il ne produit ni acides, ni alcali. Il se cultive très bien dans le lait stérilisé, dans lequel il précipite une petite partie de la caséine. Il ne fait pas fermenter l'amidon. Il

croît sur pommes de terre tenues à l'abri de l'air, sans y former de pellicule. Ses cultures de bouillon ou de gélatine filtrées au filtre Chamberland et inoculées à la dose de 12 à 14 cmc. pendant plusieurs jours à des cobayes par voie sous-cutanée, les rendent réfractaires à l'inoculation des cultures virulentes. Les cultures dont se servit l'auteur dans ce but étaient âgées d'un mois et demi. Par contre, elles ne conféraient pas l'immunité contre le charbon symptomatique et le tétanos, ainsi que l'ont affirmé Roux et Chamberland. *Penzo* a prétendu récemment que les cultures de ce bacille ne tuaient comme celles du tétanos que par les toxines contenues dans les cultures. L'auteur n'est pas de cet avis, car s'il est juste, d'une part, qu'il faut des doses assez fortes pour amener la mort, d'autre part on constate la croissance des bacilles au point d'inoculation. Lorsqu'on inocule des spores, on ne trouve, plus tard, plus de spores, mais rien que des bacilles. Le bacille de l'œdème malin est très répandu dans la terre de jardin. Il est vrai que sur 48 échantillons pris à la surface et inoculés directement dans le tissu sous-cutané des cobayes, 19 seulement les firent périr d'œdème malin, et que sur 32 échantillons recueillis dans la profondeur 12 seulement donnèrent l'œdème malin. Mais quand on chauffe les émulsions de terre qui ont fait périr les cobayes d'autre maladie à 70°-80° et qu'on les inocule après les avoir abandonnées à elles-mêmes pendant quelque temps, les résultats sont tout autres. Ainsi, sur 12 émulsions n'ayant pas donné l'œdème malin et ainsi traitées, 10 donnèrent dans la suite l'œdème malin, et 2 seulement le tétanos. Le bacille de l'œdème malin est donc bien plus répandu dans la terre que ne le pourrait faire croire le résultat des premières inoculations. On trouve souvent dans la terre un bacille aërobie pathogène qui produit chez les animaux d'expériences des lésions anatomiques et pathologiques très semblables à celles de l'œdème malin. M. Sanfelice l'a nommé *Bacillus pseudo-œdematis maligni* et l'a décrit dans un travail précédent (voir ces *Annales*, t. V. p. 198). Cependant, dans l'œdème malin la chair des animaux a une couleur rouge beaucoup plus prononcée, et il n'y a pas l'odeur de putréfaction que l'on constate à l'autopsie des animaux tués par le pseudo-bacille de l'œdème malin.

Bacille du tétanos. — Ce bacille est un peu plus épais que celui de l'œdème malin, il a des bouts arrondis, et forme souvent de longs filaments. Les bacilles de grandeur moyenne ont des spores terminales. Ils sont mobiles et se développent plus rapidement à 37° qu'à 18-20°. Sur les plaques de gélatine recouvertes on commence à apercevoir à l'œil nu les colonies du milieu de la plaque vers le 3me ou 4me jour. Vues au faible grossissement, elles montrent un noyau central de couleur jaune d'or dont de minces filaments se détachent dans différentes directions. Elles ressemblent en partie aux colonies du *Proteus mirabilis* et ne se distinguent pas du tout

de quelques-uns des anaérobies non pathogènes dont la description suivra. Les colonies crues à l'étuve dans l'agar sont caractéristiques. A l'œil nu, elles se présentent comme de petits nuages; sous le microscope comme un enchevêtrement de fils très ténus, dont la finesse extrême permet de distinguer dans l'agar les colonies du bacille tétanique de celles d'autres anaérobies.

Inoculé par piqûre dans de l'agar, le développement se fait à partir de 1-1 1/2 centimètre au-dessous de la surface. La culture a l'aspect d'un sapin. Dans la gélatine l'aspect est un peu différent; comme il a souvent été décrit, nous le passons ici. Le bacille tétanique se cultive très bien dans le lait dans lequel il n'amène pas d'altération. Il ne produit ni acides, ni alcali. Il ne fait pas fermenter l'amidon. Quant à la diffusion du bacille tétanique dans la terre, il en est comme pour l'œdème malin. Si l'on s'en tient à une seule inoculation des émulsions de terre, on peut le croire peu répandu; ainsi de 48 cobayes inoculés avec de la terre, 3 seulement prirent le tétanos; mais lorsqu'on tient les émulsions à 80° ou qu'on les conserve quelques mois, on voit les échantillons qui avaient donné au début l'œdème malin provoquer le tétanos, parce que les bacilles de l'œdème malin n'ont pas résisté à ce traitement. On peut aussi, pour démontrer la présence du bacille tétanique, ensemencer du bouillon avec de la terre, filtrer à la bougie Chamberland après 8 à 10 jours passés à l'étuve, et inoculer le filtratum à des cobayes. Ceux-ci meurent presque toujours avec les symptômes du tétanos, ce qui prouve que le bacille tétanique se trouvait dans ces cultures impures et y avait produit ses toxines. L'auteur traite encore des lésions provoquées par le tétanos et de l'action des toxines, que nous sautons ici, nos lecteurs les connaissant par les travaux de Kitasato, Vincent, Vaillard, etc.

Le bacille tétanique se trouve dans les fèces de beaucoup d'animaux. Sur 23 cobayes inoculés avec des fèces de la même espèce animale, 7 contractèrent le tétanos.

Bacille du charbon symptomatique. — Dans la goutte pendante ce bacille est de longueur variable, jamais en filaments aussi longs que ceux de l'œdème malin, peu mobile, à peu près de la largeur de la bactéridie charbonneuse, à bouts arrondis. Sur plaques de gélatine recouvertes, les colonies ne se développent qu'au milieu de la plaque et ressemblent à celles de l'œdème malin avec cette différence qu'elles liquéfient la gélatine plus vite et produisent rapidement de petites bulles de gaz. Sur agar les colonies ont tantôt l'aspect de fils enchevêtrés, tantôt elles ressemblent à celles du *Proteus mirabilis*. Les cultures en piqûre dans la gélatine sont très caractéristiques. Au bout d'un à 2 jours on observe de 1 à 1 1/2 centimètre au-dessous de la surface un trouble qui émet des prolongements dans diverses directions. La gélatine s'amollit peu à peu, le trouble s'étend le long de la piqûre, et les prolongements

gagnent en longueur. A ce moment, la culture ressemble à une chenille. En même temps des bulles de gaz se réunissent dans la partie supérieure. Peu à peu la gélatine se liquéfie totalement, et une masse blanchâtre tombe au fond du tube, tandis que la partie supérieure de la gélatine reste limpide. Les cultures ont une mauvaise odeur, pareille à celles d'autres anaérobies non pathogènes de la terre. Ce microorganisme produit de l'acidité. Dans le lait stérilisé, il précipite la caséine beaucoup plus vite que celui de l'œdème malin. Le sérum qui se sépare du lait caillé reste clair. Il ne fait pas non plus fermenter l'amidon. Les cultures pures dans du bouillon filtrées à la bougie Chamberland confèrent l'immunité contre les cultures virulentes aux cobayes auxquels on en inocule pendant plusieurs jours une dose de 15 centimètres cubes. Les produits de culture du bacille du charbon symptomatique ne donnent pas d'immunité à l'égard de l'œdème malin et du tétanos.

Anaérobies non pathogènes. — Ceux-ci ont été isolés par M. Sanfelice de substances organiques en putréfaction (viande), de la terre et des fèces d'herbivores. Il leur a donné des numéros en guise de noms.

Anaérobie I. — Sur les plaques de gélatine recouvertes les colonies deviennent visibles du 2me au 4me jour, sous forme de points blanchâtres plus ou moins ronds. Après quelques jours ils s'allongent en sens divers et ressemblent à des étoiles. Sous le microscope les jeunes colonies sont rondes, jaunes, finement granuleuses et souvent entourées de filaments. Les plus âgées ont au centre une colonie ronde dont partent des prolongements ramifiés consistant en colonies moins grandes juxtaposées qui deviennent d'autant plus petites qu'elles sont plus éloignées de la colonie centrale. Les colonies du bout se terminent souvent par des filaments. Dans l'agar elles ont l'aspect d'un écheveau de fil. Ce bacille est peu mobile et de longueur variable; ses bouts sont légèrement arrondis. Ses mouvements ressemblent à ceux du *Proteus mirabilis* dans la goutte pendante, et cessent après quelques minutes. Ce microorganisme est caractérisé par sa tendance à produire des formes d'involution. Le milieu ou le bout des bacilles se gonflent alors. Dans les cultures par piqûre la croissance n'a lieu que le long de celle-ci. A côté de la piqûre il se forme de nombreuses bulles de gaz qui fendent la gélatine en plusieurs disques. Cet anaérobie a été isolé d'une infusion de viande putréfiée. Il n'a été trouvé ni dans la terre, ni dans les fèces.

Anaérobie II. — Ce microorganisme est un bacille mobile à spores terminales, et se développe lentement. Sur les plaques de gélatine recouvertes, on ne remarque les colonies qu'après 8 à 10 jours. A l'œil nu ce sont de petits points blancs. Sous le microscope les unes sont rondes, à contours vagues, foncées au centre, jaunes citron clair à la périphérie et finement granuleuses ;

d'autres ont de courts et rares prolongements. Elles exhalent une odeur très désagréable. Dans l'agar les colonies vues à un plus fort grossissement semblent un écheveau épais de fils entremêlés. Les bacilles sont de longueur variable, les spores terminales dépassent le corps du bacille. Elles se colorent par la coloration double de Ziehl (fuchsine phéniquée et bleu de méthylène). Dans les cultures par piqûre dans la gélatine, des prolongements latéraux partent de la piqûre, de façon à lui donner l'apparence d'un arbre ; d'autres fois, il se forme de petites colonies très rapprochées, le long de la piqûre, sans prolongements ; d'autres fois encore, de longs filaments ramifiés partent de la piqûre, en sorte que la culture a l'aspect d'un enchevêtrement de fils très fins. Généralement, il y a production de gaz. La description de cet anaérobie est pareille à celle que *Liborius* fait de son *Bacillus polypiformis*. Il produit de l'acidité, et croît bien dans le lait. Il ne fait pas fermenter l'amidon, et ne fluidifie pas la gélatine. Trouvé très souvent dans les infusions de viande putréfiée et dans la terre.

Anaérobie III. — Les colonies de cet anaérobie croissent très lentement sur les plaques de gélatine recouvertes. 10 à 15 jours au moins se passent jusqu'à ce que l'on voie de petits points blanchâtres. Sous le microscope, les colonies sont rondes, à contours nets, jaune d'or et finement granuleuses. Elles exhalent une mauvaise odeur, et ne liquéfient pas la gélatine. On n'observe pas la production de bulles de gaz. C'est un bacille court, peu mobile, à bouts légèrement arrondis. Les cultures par piqûre restent limitées à celle-ci. Ce bacille a des spores terminales. Trouvé d'abord dans une infusion de viande putréfiée, puis dans la terre. Il a beaucoup de caractères communs avec le *Bacillus solidus* de Lüderitz.

Anaérobie IV. — Celui-ci est un bacille mobile avec de très grosses spores en forme de clostridium. Les colonies sur les plaques de gélatine recouvertes commencent à se montrer après 3 à 4 jours ; à l'œil nu, on les voit comme de petits points blanchâtres de forme plus ou moins régulière. Sous le microscope elles rappellent beaucoup les colonies du *Proteus mirabilis*. Souvent une colonie plus ou moins ronde est entourée de plusieurs petites colonies. Entre les colonies il se forme beaucoup de bulles de gaz. La gélatine n'est pas liquéfiée. Les colonies dans l'agar sont plus ou moins rondes, finement granuleuses et à bords nets. Enfin, elles ont un noyau central avec une aréole claire. Dans la goutte pendante on voit des bacilles de différentes grandeurs à bouts arrondis, munis de spores terminales en forme de clostridium. Leurs mouvements cessent bientôt. L'aspect des cultures par piqûre dans la gélatine est différent. Souvent les colonies se développent isolément le long de l' iqûre, à partir de 2 à 3 centimètres de la surface. D'autres

fois, il se forme le long de la piqûre une bande blanchâtre dont se séparent, surtout dans les vieilles cultures, de nombreuses petites colonies. La gélatine n'est pas liquéfiée. Dans l'agar les colonies ont souvent l'aspect d'un enchevêtrement de fils, de forme plus ou moins ronde. Cet anaérobie se développe aussi très bien dans les milieux légèrement acides. Il ne produit ni acides ni alcali. Il se développe aussi dans le lait qu'il caille, mais il ne fait pas fermenter l'amidon. Isolé d'abord d'infusions de viande putréfiée ; trouvé plus tard aussi dans la terre et dans les fèces de cobaye. L'auteur lui donne le nom de *Clostridium solidum*.

Anaérobie V. — Les colonies de cet anaérobie deviennent visibles sur les plaques de gélatine recouvertes après 4 à 5 jours et paraissent, vues sous le microscope, rondes, granuleuses, à bords nets. Plus elles grandissent, plus elles perdent la netteté de leurs contours ; on voit un mouvement prononcé dans l'intérieur, et à la périphérie on observe des bacilles mobiles qui tournent autour de la colonie. Entre les colonies, il y a beaucoup de bulles de gaz. Les colonies dans l'agar sont souvent rondes à bords nets, et émettent des prolongements dans diverses directions. Ces bacilles sont mobiles, de longueur variable ; plusieurs d'entre eux ont des spores médianes ou terminales très réfringentes. Leurs mouvements dans la goutte pendante cesse bientôt. Les cultures par piqûre dans la gélatine se développent aussi tardivement et ne deviennent jamais visibles avant 3 à 4 jours. Elles apparaissent au début sous forme de nombreuses colonies rondes éloignées les unes des autres, qui grandissent peu à peu et finissent par confluer.

Dans les cultures par piqûre il y a aussi un fort développement de gaz. Dès que les colonies séparées se sont réunies, la culture se rapproche de la surface, jusqu'à ce que toute la gélatine soit liquéfiée. On voit alors la culture tomber au fond du tube sous forme de flocons blancs, tandis qu'au-dessus la gélatine est tout à fait claire.

Cet anaérobie se développe également bien dans les milieux neutres, légèrement alcalins et légèrement acides. Il croît bien dans le lait qu'il caille. Il ne transforme pas l'amidon en sucre. Il a beaucoup de caractères communs avec le *Clostridium fœtidum* de Liborius et le *Bacillus liquefaciens parvus* de Lüderitz. Il se trouve fréquemment dans les infusions putrides de viande et dans la terre.

Anaérobie VI. — Comme le précédent, celui-ci ne se développe aussi que tardivement, sur les plaques de gélatine recouvertes seulement au bout de 3 ou 4 jours. Les colonies jeunes, qui n'ont pas encore liquéfié la gélatine, ont un tout autre aspect que les vieilles colonies, et ressemblent beaucoup à celles du *Proteus mirabilis*. Quand la liquéfaction s'est produite, on voit dans le centre des colonies un amoncellement de bactéries, à la périphérie des filaments s'étendant dans diverses directions et entre le centre et la péri-

phérie, de nombreux bacilles mobiles. Ceux-ci sont parfois munis d'une spore terminale. Entre les colonies on ne remarque pas la formation de gaz. Cet anaérobie dégage également une odeur désagréable. Les colonies dans l'agar ressemblent à un enchevêtrement touffu de fils. Les bacilles sont mobiles et de longueur variable. Les cultures par piqûre dans la gélatine se montrent sous forme d'un trouble léger dans la gélatine, qui reste nettement séparé de la partie solide et à 1 ou 2 centimètres au-dessous de la surface. Elles deviennent apparentes après 2 à 3 jours. Au bout de 6 à 7 jours, la gélatine est entièrement liquéfiée, et la culture forme une masse blanche au fond du tube. Cet anaérobie se développe aussi dans des milieux légèrement acides. Il croît très bien aussi dans le lait et le caille. Il ne transforme pas l'amidon en sucre. Il a beaucoup de caractères communs avec le *bacillus liquefaciens magnus* de Lüderitz.

Anaérobie VII. — Sur plaques de gélatine recouvertes les colonies de cet anaérobie ressemblent à celles du *Proteus mirabilis*, et ne produisent pas de gaz dans la gélatine qui n'est pas additionnée de sucre. En 6 jours les colonies ont commencé à liquéfier la gélatine et ont alors un autre aspect. Au centre, on voit une masse sombre de forme plus ou moins régulière, et à la périphérie des prolongements assez longs composés d'agglomérations de bacilles. Les cultures de cet anaérobie ont aussi une très mauvaise odeur. Les bacilles sont mobiles et sont souvent réunis en longs filaments. Les bacilles plus courts ont des spores terminales. Les filaments en ont souvent plusieurs. Les colonies dans l'agar ressemblent beaucoup à celles de l'œdème malin, de même que celles dans la gélatine qui produisent abondamment des gaz. Quand la gélatine est tout à fait liquéfiée, on voit au fond du tube une masse blanchâtre floconneuse, tandis que la gélatine des couches supérieures reste limpide. Relativement à la réaction des milieux nutritifs, il se comporte comme le bacille de l'œdème malin. Il en est de même pour ses cultures dans le lait et dans les milieux contenant de l'amidon. Cet anaérobie est probablement identique avec le pseudo-bacille de l'œdème malin décrit par Liborius. L'auteur l'a fréquemment trouvé dans des infusions putrides de viande, dans la terre et dans les fèces de cobayes. Il ressemble assez au *Bacillus radiatus* de Lüderitz.

Anaérobie VIII. — Les colonies de cet anaérobie se développent sur les plaques de gélatine recouvertes après 4 à 5 jours et ont des aspects divers. Celles qui n'ont pas encore liquéfié la gélatine accusent, sous le microscope, des formes irrégulières et émettent de nombreux prolongements à la périphérie. Quand elles ont commencé à liquéfier la gélatine, elles sont rondes, de couleur jaune-brun, granuleuses; elles ont une aréole assez claire et de courts filaments qui partent de la périphérie. A un grossissement plus

fort on constate un vif mouvement tourbillonnant dans le milieu de la colonie. Les colonies dans l'agar ressemblent à celles du charbon symptomatique. Les bacilles sont mobiles, de longueur variable, plusieurs d'entre eux possèdent une spore terminale. Les filaments plus longs en ont plusieurs. Les cultures par piqûre dans la gélatine sont tout à fait comme celles du charbon symptomatique. Dans les milieux légèrement acides ou alcalins, dans le lait, la gélatine et l'agar additionnés d'amidon, ce bacille se développe tout à fait comme le bacille du charbon symptomatique. Trouvé dans les infusions putrides de viande et dans la terre; il possède beaucoup de caractères communs avec le *Bacillus spinosus* de Lüderitz.

Anaérobie IX. — Les colonies de cet anaérobie se développent sur les plaques de gélatine recouvertes après 6 à 7 jours et donnent à l'œil nu l'impression d'un trouble circonscrit au centre de la plaque. Au faible grossissement elles ont l'aspect des bacilles du tétanos, de même que les colonies sur agar. Ces bacilles sont peu mobiles, de longueur variable; quelques-uns ont des spores rondes, terminales. Les cultures par piqûre dans la gélatine sont très caractéristiques. Après 5 à 6 jours on observe un trouble dans la gélatine à 1 à 2 centimètres au dessous de la surface. Après 5 ou 6 jours encore on constate l'apparition, autour de la culture principale, de petites colonies ressemblant à de petits nuages qui grandissent les jours suivants. Cet anaérobie ressemble beaucoup à celui du tétanos en ce qui concerne sa croissance dans l'agar légèrement acide ou alcalin, dans le lait et dans les milieux contenant de l'amidon. Trouvé souvent dans les infusions putréfiées de viande et dans la terre.

En résumé, la plupart des anaérobies isolés d'infusions putrides de viande, de la terre et des fèces d'herbivores sont mobiles et à spores. Celles-ci sont souvent ovales, médianes ou terminales, et ne dépassent pas les contours du bacille; d'autres fois elles sont aussi ovales, médianes ou terminales mais dépassent le corps du bacille. D'autres espèces possèdent des spores rondes, terminales, dépassant de beaucoup le corps du bacille; d'autres enfin possèdent des spores en *Clostridium*. Dans les milieux solides ils dégagent des gaz exhalant une mauvaise odeur. La plupart liquéfient la gélatine. Les colonies sur gélatine présentent quelques différences; celles sur agar se ressemblent toutes beaucoup à peu d'exceptions. Les cultures de ces anaérobies non pathogènes, inoculées même en fortes doses, n'amènent pas la mort des animaux d'expérience; leur pléomorphisme rend très difficile d'établir l'identité d'une espèce. Les différences que l'on note entre les anaérobies trouvés dans la terre ne suffisent, en général, pas pour établir des espèces, mais tout au plus des variétés d'une même espèce. On peut les réunir sous trois types principaux, qui ne se distinguent des bacilles patho-

gènes de la terre, savoir: le bacille de l'œdème malin, le bacille du tétanos et celui du charbon symtomatique, que par l'absence de virulence.

De l'immunité provoquée par les produits de culture des anaérobies

M. Sanfelice constate d'abord que l'on peut conférer l'immunité contre l'œdème malin et contre le charbon symptomatique, mais pas contre le tétanos, en inoculant aux cobayes pendant plusieurs jours de suite 25-30 cmc. d'infusions de viandes putrides filtrées à la bougie Chamberland ; il en est de même d'émulsions de terre dans du bouillon tenu à l'étuve pendant quelques jours. L'auteur cultiva alors dans du bouillon 3 anaérobies absolument semblables, sauf le pouvoir pathogène, aux 3 anaérobies pathogènes de la terre, et inocula à des cobayes, pendant quelques jours, 30 cmc. du filtratum de ces différentes cultures ; il les inocula ensuite avec une émulsion de terre contenant les bacilles du pseudo-œdème, de l'œdème malin et du tétanos. Les 3 cobayes de contrôle moururent d'œdème malin et de pseudo-œdème ; les six autres, vaccinés par les cultures des anaérobies non pathogènes, par contre, succombèrent au tétanos. Les produits de culture des anaérobies non pathogènes les avaient donc vaccinés contre les bacilles du pseudo-œdème et de l'œdème malin.

Action des produits de culture réunis des cultures d'anaérobies

L'auteur commence par étudier l'action combinée des cultures des anaérobies pathogènes. Il résulte de ses recherches que l'inoculation de deux virus amène la mort plus vite que celle d'un virus isolé. Ainsi, les animaux inoculés avec le tétanos seul meurent le 3e jour, et avec l'œdème malin seul en 24-36 heures. Inoculés avec les deux réunis, ils meurent avec les symptômes du tétanos en 14-18 heures. Il en est de même quand on inocule simultanément le tétanos et le charbon symptomatique. De même, quand on inocule en même temps que le tétanos une culture d'un des 3 anaérobies non pathogènes, mais ressemblant, à part cela, aux 3 espèces pathogènes, on voit les cobayes mourir en 18 à 20 heures, avec les symptômes du tétanos. L'inoculation de l'œdème malin faite simultanément avec celle de l'un de ces anaérobies non pathogènes fait de même mourir les cobayes en 14 à 18 heures au lieu de 24-36 heures. Le résultat est le même quand on remplace l'œdème malin par le charbon symptomathique.

Les cultures mixtes dans l'agar de 2 anaérobies pathogènes, tétanos et œdème malin ou tétanos et charbon symptomatique, font également périr les animaux déjà au bout de 14 à 18 heures.

On obtient le même résultat quand on inocule ensemble dans de l'agar un anaérobie pathogène et un des 3 anaérobies non pathogènes. Le résultat reste le même quand, au lieu de les inoculer simultanément, on les inocule dans l'agar, l'un après l'autre. L'agar imprégné des toxines de l'un de ces anaérobies non pathogènes et employé comme milieu de culture pour un pathogène, et *vice versa* devient beaucoup plus toxique.

M. Sanfelice recherche ensuite si l'on peut donner aux anaérobies non pathogènes de la virulence, en les cultivant pendant un certain temps sur des milieux imprégnés des toxines des anaérobies virulents. Il en résulte, que si l'on cultive l'anaérobie IX (pseudo-bacille du tétanos) pendant 16 à 18 jours, dans un milieu imprégné des toxines du tétanos, et que de là on le reporte sur agar ordinaire, il reste virulent jusqu'à la 5e génération. A partir de la 6e il ne tue les cobayes qu'après 6 à 7 jours, et à partir de la 8e génération il ne les tue plus. Le pseudo-bacille de l'œdème malin acquiert les mêmes propriétés quand on le cultive sur un terrain imprégné des toxines du bacille du tétanos, et fait mourir les cobayes avec les symptômes du tétanos. Par contre, le pseudo-bacille du charbon symptomatique cultivé dans les milieux imprégnés de toxines tétaniques, et reporté de là sur agar ordinaire, fait mourir les cobayes en 24 heures avec les symptômes du charbon symptomatique. Les anaérobies non pathogènes cultivés dans les milieux imprégnés des toxines de l'œdème malin ou du charbon symptomatique n'acquièrent, par contre, aucune virulence.

E. F.

PUBLICATIONS RÉCENTES

A.-B. Griffiths. — Ptomaïnes extraites des urines dans l'érysipèle et dans la fièvre puerpérale (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXV, p. 667).

Ces deux ptomaïnes qui apparaissent sous l'aspect de substances blanches, cristallisées, solubles dans l'eau, à réaction alcaline, sont très toxiques. Elles ne se rencontrent pas dans les urines normales.

N. Ketscher. — De l'immunité contre le choléra conférée par le lait (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXV, p. 690).

L'auteur démontre par une série d'expériences que le lait d'une chèvre vaccinée contre le choléra injecté dans le péritoine des cobayes les rend réfractaires à une dose mortelle de culture du choléra ; le lait des chèvres non vaccinées ne possède aucun pouvoir immunisant.

J. Héricourt et Ch. Richet. — Influence sur l'infection tuberculeuse de la transfusion du sang des chiens vaccinés contre la tuberculose (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXV, p. 842).

Le sang des chiens, vaccinés avec des cultures de tuberculose aviaire, transfusé à des chiens infectés de tuberculose humaine *ralentit* et *même arrête* le processus tuberculeux.

H. Jumelle. — Sur une espèce nouvelle de bactérie chromogène, le *Spirillum luteum* (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, t. CXV, p. 843).

C'est en résumé une bactérie courbe, jaune, mobile, habitant le sol et essentiellement aérobie; elle liquéfie lentement la gélatine et peut vivre dans un milieu dépourvu d'azote ; dans ce dernier cas, elle passe de la forme de bacille courbe à une forme presque sphérique.

Cl. Nourry et C. Michel. — Action microbicide de l'acide carbonique dans le lait (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 959).

Le lait saturé d'acide carbonique sous pression et à la température ordinaire se coagule 4 fois moins vite que le lait ordinaire. Ce même lait porté à 45°, 65° et 80° se caille dans les conditions ordinaires ; à 120° il se coagule immédiatement.

L. Thélohan. — Myxosporidies de la vésicule biliaire des Poissons. Espèces nouvelles (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 961).

Notre savant collaborateur signale l'existence d'une nouvelle

myxosporidie trouvée dans la vésicule biliaire du *Trygon vulgaris*, à laquelle il donne le nom de *Ceratomyxa agilis*, et d'une seconde espèce nouvelle, le *Ceratomyxa appendiculata*, qu'il a découvert dans la vésicule biliaire du *Lophius piscatorius*.

P. Vuillemin. — *Æcidiconium*, genre nouveau d'Urédinées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 966).

L'avortement des téleutospores et le développement corrélatif de l'appareil conidien, anormaux chez les autres Urédinées connues, est le trait le plus caractéristique du genre *Æcidiconium* dont M. Vuillemin décrit une espèce : l'*Æcidiconium Barteti*, parasite du *Pinus montana*.

Arloing. — Des moyens de diminuer le pouvoir pathogène des pulpes de betteraves ensilées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 1045).

M. Arloing propose trois moyens : 1° la neutralisation de la pulpe par une solution de soude ; 2° le chauffage à la température de 100° pendant quelques minutes ; 3° enfin le salage, le chlorure de sodium enlevant énergiquement la toxicité des liquides qui impreignent la pulpe de betterave. Ce dernier moyen est particulièrement pratique et aisé à employer.

P. Thélohan. — Myxosporidies de la vésicule biliaire des Poissons. Espèces nouvelles (*Comptes rendus de l'Académie des sciences* t. CXV, p. 1091).

L'auteur continue ses descriptions des myxosporidies de la vésicule biliaire des Poissons par la *Ceratomyxa arcuata* vivant chez la *Motella tricirrata*, la *Sphæromyxa Balbiani* et le *Myxidium incurvatum* qu'on trouve également dans la *Motella tricirrata* et aussi dans la vésicule biliaire de l'*Entelurus æquoreus* du *Syngnathus acus*, etc.

A. Babès. — Action de l'extrait de sang de bœuf sur les animaux atteints de morve (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 1106).

Après avoir indiqué la façon de préparer l'extrait de sang de bœuf en solution glycérinée, M. Babès rapporte les expériences qui démontrent que cet extrait injecté en faible quantité chez les animaux morveux (cobayes et chevaux) détermine une réaction hyperthermique, tandis que chez les animaux non morveux l'élévation de la température est nulle ou à peu près nulle.

Bouchard et Charrin. — Élévations thermiques sous l'influence des injections des produits solubles microbiens (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 1225).

Ces savants établissent que les toxines du bacille du pus bleu

sont capables d'élever la température du corps humain ; que cette élévation thermique est d'autant plus marquée que la dose est plus forte et la culture plus âgée ; qu'elle est également sous la dépendance des milieux de culture ; enfin que les tuberculeux sont ceux chez lesquels la réaction hyperthermique acquiert le maximum d'intensité.

R. Lezé. — Séparation des microorganismes par la force centrifuge (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 1317).

L'auteur vante cette action mécanique pour éclaircir les liquides, les séparer des microphytes qu'ils tiennent en suspension et enfin pour stériliser les eaux et les liquides en fermentation, quand on prend la précaution de soustraire la turbine à l'action de l'air atmosphérique toujours chargé de microbes.

Alex. Hébert. — Sur les fermentations du fumier (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 1321).

L'arrosage régulier du fumier, qui permet d'éviter les pertes d'ammoniaque, entretient convenablement la fermentation forménique ; les déperditions d'azote d'un fumier maintenu en bon état d'humidité ne pouvant avoir lieu à l'état d'ammoniaque, elles sont dues au dégagement de l'azote libre.

J. Effront. — Sur les conditions chimiques d'action des diastases (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 1324).

M. Effront a trouvé que des faibles doses de sels d'aluminium, de phosphates, d'asparagine et de certaines albumines possèdent la propriété de favoriser dans le rapport de 1 à 10 le pouvoir saccharifiant de l'amylase, du glycase et du ferment soluble de l'*Aspergillus oryzæ*.

R. Sabouraud. — De la tricophytie chez l'homme (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXV, p. 1326).

Les conclusions de cet intéressant mémoire sont insérées *in extenso* dans les *Annales de micrographie*, t. V. p. 329).

Percy Frankland et H. Marshall Ward. — The vitality and virulence of *Bacillus anthracis* and its spores in potable waters (*Proceedings of the Royal Society*, vol. 53).

Cet important travail de ces deux savants anglais est trop étendu pour faire l'objet d'une briève analyse, nous nous contentons seulement aujourd'hui de l'annoncer.

Relazione del servizio batteriologico, Torino, 1893.

Dans ce compte rendu des travaux du service bactériologique de la ville de Turin, nous signalerons de très intéressantes notices du Dr Bordoni-Uffreduzzi sur l'analyse microscopique des eaux, de

quelques substances alimentaires, sur le fonctionnement du service antirabique de la désinfection, etc.

P. Miquel. — De la culture artificielle des diatomées (*Le Diatomiste*, vol. I, p. 73, 93, 121, 149).

L'auteur expose la technique de la culture des diatomées dans l'eau douce et l'eau de mer ; les méthodes de réparation de ces algues ; leur culture à l'état de pureté et les bénéfices que le botaniste semble devoir retirer de l'élevage en toute saison des frustules dans le laboratoire.

P.-T. Cleve. — Diatomées rares ou nouvelles (*Le Diatomiste*, vol. I, p. 75).

Ce savant décrit les espèces *Tripidoneis Zebra*, *Seriata*, le *Caloneis Kinkerina*, les *Navicula Quincunx*, *Variolata*, *Hudsonis*, *Biblos*, *Hyalosira Nidulans* et le *Scoliopleura latestriata* var. *Amphora*.

H. Peragallo. — Monographie du genre *Rhizosolenia* et de quelques genres voisins (*Le Diatomiste*, vol. I, p. 79 et 99).

Monographie très étudiée où ce savant diatomiste propose une lassification simplifiée de ces diatomées délicates répandues en si grande quantité à la surface des mers.

P. Bergon. — Monographie du genre *Entogonia* (*Le Diatomiste*. vol. I, p. 83, 128, 148).

Intéressante étude, accompagnée de nombreuses et belles planches.

P.-T. Clève et E. Grove. — Diatomées nouvelles ou peu connues (*Le Diatomiste*, vol. I, 54, 64 et 156).

Dans cette étude de longue haleine, accompagnée de nombreuses planches, les auteurs signalent : 6 *Plagiogramma*, 2 *Glyphodesmis*, de nombreuses espèces des genres *Navicula*, *Mastogloïa* et *Amphora*.

J. Brun. — Notes sur quelques espèces nouvelles de diatomées (*Le Diatomiste*, vol. I, 173).

Parmi les espèces décrites, mentionnons l'*Achnanthes indica*, l'*Actinoptychus interpositus*, le *Campyloneis notabilis*. le *Ditylum Grovei*, l'*Hermaulus unicornatus*, l'*Orthoneis barbadensis* var. *tenuipunctata*, le *Rhabdonema formosum* et le *Rouxia Peragalli*.

De Nabias et Sabrazès. — La filaire du sang des grenouilles, découverte du mâle (*Association française pour l'avancement des sciences*. Congrès de Pau, sept. 1892).

Le mâle de la filaire, plus petit que la femelle, mesure 8 à 9 mil-

limètres de longueur sur $0^{mm},25$ d'épaisseur. Il est cylindrique, blanchâtre, enroulé en spirale à sa partie postérieure, son système génital se compose d'un tube testiculaire, entourant l'appareil digestif, rempli de spermatozoïdes du même type que ceux de l'*Ascaris megalocephala*. Ces mâles ont pour habitat le tissu conjonctif des grenouilles où se fait l'accouplement avec les filaires femelles.

Dr A. Cavazzani. — Ueber die Absonderung der Bakterien durch die Nieren. De l'élimination des bactéries par les reins (*Centralblatt für Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie*, IV, p. 403).

Dr J. Schnitzler. — Zur Kenntniss des Tetanus. Contribution à la connaissance du tétanos (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 679).

W. Hesse. — Ueber Aetiologie der Cholera. Sur l'étiologie du choléra (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIV, p. 27).

A. Wassermann. — Untersuchungen über Immunität gegen Cholera asiatica. Recherches sur l'immunité contre le choléra asiatique (*Zeitschrift für Hygiene und Imfectionskrankheiten*, XIV, p. 35).

R. Pleiffer, et A. Wassermann. — Untersuchungen uber das Wesen der Cholera-Immunität. Recherches sur la nature de l'immunité cholérique (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIV, p. 46).

M. Bleich. — Ueber einige Fehlerquellen bei Anstellung der Cholerarothreaktion und ihre Vermeidung. Sur quelques fautes à éviter dans la recherche de la réaction du rouge du choléra (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIV, p. 103).

Dr Burci. — Osservazioni cliniche e ricerche sperimentali sulle suppurazioni da bacillo tifico. Observations cliniques et recherches expérimentales sur les suppurations causées par le bacille typhique. (*Archivio italiano di clinica medica*, 1893).

Dr W. Petersen. — Ueber Bacillenbefunde beim *Ulcus molle*. Des bacilles trouvés dans le chancre mou (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 743).

Dr Gorini. — Anmerkung über die Cholerarothreaktion. Observation sur la réaction rouge du choléra (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 790).

L'Éditeur-Gérant: Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

RECHERCHES SUR LA VIRULENCE, SUR LE CONTENU EN AZOTE ET SUR LE POUVOIR IMMUNISANT RÉCIPROQUE DU BACILLE DU CHOLÉRA SUIVANT SA PROVENANCE

PAR

Le Professeur V. DE GIAXA
AVEC LA COLLABORATION DU Dr P. LENTI
(Institut d'hygiène de l'Université royale de Naples)

Déjà les différences obtenues par de nombreux expérimentateurs dans l'infection artificielle des animaux avec diverses cultures de choléra, différences portant sur leur virulence et leur pouvoir immunisant, donnent lieu de supposer que, même en admettant une seule espèce de bacille cholérique, celui-ci puisse facilement modifier quelques-uns de ses caractères particuliers, soit morphologiques, soit biologiques. Douglas-Cunningham, se basant sur les observations qu'il a faites aux Indes sur le choléra, va même jusqu'à nier la spécificité du bacille de Koch et admet que le choléra asiatique peut être causé par diverses espèces de vibrions qui ne présenteraient que jusqu'à un certain point des caractères égaux. Du reste, l'idée de variétés stables ou temporaires du bacille cholérique, trouverait peut-être un appui dans les résultats des recherches concernant l'intensité diverse de la maladie, tant endémique qu'épidémique, si l'on pouvait faire des comparaisons entre les milieux infectés, dans lesquels les conditions naturelles, d'une part, et les conditions de population et les mesures prophylactiques, d'autre part, ne varient pas beaucoup. Mais, pour autant que l'on peut

apprécier l'ensemble des connaissances que la bactériologie et la pathologie nous ont données jusqu'ici sur la spécificité et la biologie des germes infectieux connus, ainsi que sur l'identité des maladies qu'ils produisent et qui, par suite des modifications apportées par le milieu ambiant individuel ou public, peuvent beaucoup varier dans leurs forme, fréquence et gravité, on ne peut ni ne doit nier la possibilité d'une modification du germe même qui atténuerait ses effets pathologiques sans lui faire perdre sa spécificité. Aussi l'étude des conditions que l'on peut considérer comme la cause de ces modifications a-t-elle pour l'hygiène, comme aussi pour la pathologie, le plus grand intérêt, et ceci spécialement en ce qui concerne le bacille du choléra, cause d'épidémies qui se présentent avec tant de diversité dans le degré de leur intensité et de leurs effets.

Cunningham, Sclavo et d'autres ont noté des différences dans la morphologie du bacille du choléra suivant sa provenance. Lustig, Pfeiffer, Sclavo, Vincenzi, Gruber et Wiener, Vlaeff, Swatchenko et beaucoup d'autres ont constaté des différences dans la virulence du bacille cholérique non seulement par rapport à l'âge des cultures, à la quantité de culture inoculée aux animaux d'expérience, à des variations dans les terrains de culture, mais aussi par rapport à la provenance des cultures mêmes. Ces observations ont récemment été confirmées par les recherches de Hammerl et Sobernheim et plus encore par le dernier travail de Metschnikoff, qui, après avoir relevé que, dans l'état actuel de la bactériologie, les vibrions ne se présentent pas comme des espèces bien définies, démontre, en outre, par ses recherches, la diversité de virulence qui existe entre les bacilles cholériques de provenances diverses.

L'importance de ce fait pousse à de nouvelles études qu'il ne faut pas limiter à de simples constatations, mais étendre de manière à rechercher la cause de ces phénomènes.

Nous trouvant en possession de 5 cultures cholériques d'origines diverses nous avons entrepris quelques recherches dans ce sens tendant à établir :

1° La virulence des diverses cultures sur les animaux d'expérience ;

2° Le rapport entre la virulence et la teneur en azote des bactéries mêmes ;

3° Les limites et l'intensité des échanges nutritifs de ces diverses bactéries dans leurs rapports avec leur virulence ;

4° La consommation d'azote dans ses rapports avec l'intensité des échanges nutritifs et de la virulence ;

5° Le pouvoir immunisant réciproque des diverses cultures du bacille.

Les cultures en notre possession étaient les suivantes :

1° Culture du bacille cholérique de Massaua, reçue directement du Dr Pasquale ;

2° Culture isolée lors de l'épidémie de choléra de Hambourg (1892) ;

3° Culture isolée de l'épidémie de Paris (1892) ;

4° Culture isolée par le Prof. Armanni, en octobre 1892, d'un cas de choléra survenu à Naples (A) ;

5° Culture isolée par le Dr Pasquale, au mois de novembre 1892, d'un cas survenu à bord d'un navire dans le port de Naples (B).

Les caractères morphologiques que nous avons pu constater dans le développement des cultures de ces différents bacilles sur des terrains de culture artificiels ont déjà été notés en grande partie par d'autres expérimentateurs. Tant dans la gélatine que dans le bouillon nutritif et sur l'agar, le bacille de Massaua montra toujours un développement passablement plus rapide que les 4 autres bacilles ; celui de Paris se montra le plus lent de tous dans sa croissance. Il y avait aussi des différences caractéristiques dans la nature du trouble du bouillon et dans la formation de la pellicule à la surface de ce dernier. Le trouble et la pellicule se montraient toujours plus tôt et étaient plus abondants dans les cultures du bacille de Massaua, puis dans celui de Hambourg ; moins, au contraire, dans celles du bacille de Paris, dans lesquelles la pellicule faisait souvent défaut, même après plusieurs jours. Sur agar, il n'y avait pas de différence, sauf le plus ou moins d'abondance de la végétation à la superficie, et

si ce n'est que celui de Hambourg, ainsi que Hammerl l'a aussi observé, produit un gazon sec, ridé d'une manière particulière et qui peut s'enlever presque intact. Cependant, même plusieurs jours après l'ensemencement, nous n'avons pas pu confirmer l'observation de Hammerl, qui aurait le plus souvent transplanté sans succès sur de nouveaux terrains les cultures qui présentaient ce genre de développement.

Les cultures de bouillon et aussi celles sur gélatine, après la liquéfaction de cette dernière, nous donnèrent pour ainsi dire constamment la réaction de l'indol. Nous observâmes cependant une différence dans le fait que l'intensité de cette réaction se montra toujours en rapport avec le plus ou moins de rapidité de croissance de la culture ; ainsi, tandis qu'avec les cultures de Massaua une réaction d'un rouge intense s'obtenait en 2 à 3 jours, les cultures de Hambourg et de Naples ne la donnaient avec la même intensité qu'après 3 à 4 jours, et celle de Paris qu'après 5 à 6 jours. Toutefois, dans quelques cas, surtout avec les cultures du bacille A de Naples, la réaction fit défaut, même dans des cultures qui dataient de plus d'une semaine. Fait constant et digne d'être relevé, nous avons toujours obtenu la réaction de l'indol d'autant plus rapidement et d'autant plus intense que le contact de la culture avec l'oxygène de l'air était plus complet. De fait, alors qu'avec des cultures dans des tubes contenant 10 cmc. de bouillon la réaction la plus intense apparaissait à peine, même avec le bacille de Massaua, après 72 heures, une réaction de même intensité s'obtenait presque toujours, déjà en 24 à 36 heures, avec le même bouillon, dans des matras d'une capacité de 200-300 cmc. Nous avons aussi pu confirmer le fait, observé par Sclavo, que la réaction la plus constante et la plus intense s'obtenait avec des cultures qui n'avaient pas été tenues à une température trop élevée, c'est-à-dire inférieure à 30°. Nous avons aussi observé que l'intensité et la constance de la réaction étaient plus marquées avec des cultures sur gélatine plus ou moins liquéfiées.

En ce qui concerne les différences de forme présentées à l'examen microscopique par ces diverses bactéries,

nous avons noté que les préparations faites avec des cultures de bouillon et de gélatine donnaient des formes à courbe marquée pour le bacille de Hambourg et les 2 de Naples et en même temps plus minces et, dirions-nous, plus élégantes, tandis que les bacilles des cultures de Massaua et de Paris étaient plus droits, plus lourds et plus épais. Nous avons aussi remarqué que d'habitude ces différences étaient moins marquées dans les cultures sur agar. En ce qui concerne la tendance à former des filaments, il n'y eut guère de différences; cependant, ainsi que d'autres l'ont déjà noté, les cultures de Massaua ont une tendance à la production de longs filaments ne présentant pas la forme caractéristique de ceux des autres bacilles cholérigènes. L'examen microscopique révéla constamment que le bacille de Massaua, examiné dans des préparations colorées, montre presque toujours nettement un point incolore au milieu, tandis que les autres bacilles se colorent d'une manière plus uniforme. Dans les préparations faites avec le liquide péritonéal d'animaux inoculés avec ces différents bacilles, les formes de ces derniers se montrèrent toujours plus accusées et plus nettes et, en général, leur incurvation était plus marquée.

A. — *Virulence des différentes cultures*

Dans les recherches instituées à l'effet de comparer la virulence des différentes cultures, nous avons procédé de la manière suivante :

Toujours nous avons employé une gélatine nutritive à 10 p. 100 préparée avec du bouillon de viande, additionnée de 1 p. 100 de peptone de Wittd, de 0,5 p. 100 de chlorure de sodium et rendue alcaline, après neutralisation, par l'adjonction de 0,3 p. 100 de carbonate de soude. Pour toute la première série de nos recherches nous nous servîmes de la même gélatine, qui était protégée contre l'évaporation et distribuée à la dose de 7 cmc. dans les tubes. Pour les inoculations nous avons employé du bouil-

lon de viande de veau, fait avec une partie de viande pour deux d'eau, additionné de 1 p. 100 de peptone de Wittd, de 0,5 p. 100 de chlorure de sodium et alcalinisé, après la neutralisation, avec 0,3 p. 100 de carbonate de soude. Le bouillon était réparti à la dose de 10 cmc. dans les tubes tenus fermés pour empêcher l'évaporation. Le même bouillon servit à cette série de recherches.

La gélatine fut ensemencée avec les cultures originales sur agar et tenue à 20-22°. Au bout de 48 heures, après avoir constaté le développement caractéristique et la pureté des cultures au moyen de préparations microscopiques, on ensemençait une anse de platine, toujours la même, de chaque culture dans du bouillon tenu à la température de 28° à 30°. Les ensemencements sur gélatine étaient toujours renouvelés de 5 en 5 jours.

Après 3 jours les cultures de bouillon étaient utilisées pour être injectées aux animaux. Nous avons adopté la période de 3 jours, ayant pu nous convaincre par des essais que les cultures possèdent leur plus grande virulence précisément après ce temps.

Pfeiffer et aussi Koch sont d'avis que dans les inoculations aux animaux il est préférable d'employer des cultures sur agar et émulsionnées dans de l'eau ou du bouillon, attendu que ces cultures seraient plus virulentes que celles de bouillon. Nous n'avons toutefois pas pu nous décider à suivre ce mode de procéder parce qu'il aurait été difficile de déterminer avec toute l'exactitude voulue la quantité de substance à injecter chaque fois aux animaux, de manière à obtenir des résultats absolument comparables. Toute notre attention tendit à maintenir identiques les conditions relatives aux terrains de culture, à la durée du développement des cultures, à la manière de pratiquer les injections et à la quantité relative de substance injectée. Pour cela, les injections furent toujours pratiquées avec une quantité déterminée de culture en rapport avec le poids de l'animal. Comme animaux d'expérience nous nous servîmes de cobayes qui, avant d'être employés, avaient été tenus quelques jours en observation après leur acquisition. Tous furent soumis à une alimentation égale et constante. Nous choisîmes l'infection par la voie péritonéale et nous la

pratiquions, après avoir enlevé les poils sur un point de la paroi abdominale et après avoir désinfecté celle-ci, au moyen d'une seringue d'une capacité de 25 centimètres cubes avec des divisions de 1/10 de centimètre cube.

La première série de ces recherches est résumée dans le tableau I. Comme on le voit dans la première colonne, nous avons commencé par l'injection d'une quantité de 1,5 p. 100 du poids de l'animal, augmentant ou diminuant la dose dans la suite pour chaque culture suivant les résultats obtenus.

Ainsi que le montrent les résultats, la mort des cobayes a toujours eu lieu en moins de 24 heures.

Nous avons pu constater les rapports suivants entre la virulence des différentes cultures.

Massaua, 0,2-0,3; Hambourg, 1-1,5; Paris, 2-3; Naples A, 1-1,5; Naples B, 1,2-1,5 p. 100.

Si l'on tient compte, dans le degré de virulence des différentes cultures, des limites inhérentes probablement aux conditions individuelles des animaux, on voit que la différence entre la virulence des diverses cultures est surtout très marquée pour le bacille de Massaua comparé à celui de Paris, tandis que ceux de Hambourg et de Naples, A et B, ont montré une virulence à peu près égale et qui tient le milieu entre celle des bacilles de Paris et Massaua. Une pareille diversité dans la virulence présente un intérêt encore plus grand en raison du fait que le bacille de Massaua, qui est le plus virulent de tous, avait été cultivé pendant plus de deux ans sur des terrains de culture artificiels. Il n'est pas moins intéressant non plus de noter que dans un cas une quantité de 0,1 p. 100 du poids de l'animal a suffi pour faire mourir celui-ci.

TABLEAU I

	1					2					3					4				
	Poids en grammes	Rapport avec le poids de l'animal en 0/0	Quantité inoculée	Jour de l'inoculation	Jour de la mort	Poids en grammes	Rapport avec le poids de l'animal en 0/0	Quantité inoculée	Jour de l'inoculation	Jour de la mort	Poids en grammes	Rapport avec le poids de l'animal en 0/0	Quantité inoculée	Jour de l'inoculation	Jour de la mort	Poids en grammes	Rapport avec le poids de l'animal en 0/0	Quantité inoculée	Jour de l'inoculation	Jour de la mort
Massaua. .	560	1 5	8,6	26 II	en moins de 18 heures	635	0,8	5,1	28 II	après 18 h.	545	0,6	3,3	3 III	après 18 h	370	0,3	1,1	16 III	17 III
Hambourg.	462	1,5	6,9	»		632	0,8	5,1	»	—	525	1,2	6,3	»	—	355	1,5	5,3	»	»
Paris. . . .	440	1,5	6,6	»	—	365	2,0	7,3	»	—	340	3,0	10,2	»	4 III	247	3,0	7,4	»	»
Naples A. .	490	1,5	7,3	»	en moins de 18 heures	555	0,8	4,4	»	—	472	1,2	5,7	»	—	410	1,5	6,1	»	»
Naples B. .	425	1,5	7,4	»		775	0,8	6,2	»	—	597	1,2	7,2	»	4 III	386	1,2	4,6	»	»

	5^a					6^a					7^a					8^a				
Massaua. .	447	0,2	0,9	18 III	19 III	380	0,2	0,7	19 III	20 III	325	0,1	0,3	20 III	après 15 h.	365	0,1	0,4	24 III	—
Hambourg.	305	1,5	4,6	»	»	422	1,0	4,2	»	»	345	0,8	2,8	»	22 III	260	0,8	2,1	»	—
Paris. . . .	295	3,0	8,9	»	»	445	2,0	8,9	»	»	235	1,8	4,2	»	21 III	240	1,8	4,3	»	—
Naples A. .	338	1,5	5,1	»	—	442	1,0	4,4	»	»	335	0,8	2,7	»	—	270	0,8	2,2	»	—
Naples B. .	320	1,2	3,8	»	—	390	0,8	3,1	»	—	305	0,6	1,8	»	—	280	0,6	1,6	»	—

L'autopsie des animaux morts fut toujours faite en notant les signes caractéristiques de l'infection cholérigène et en faisant chaque fois des préparations microscopiques du contenu péritonéal. Presque constamment nous avons constaté la présence d'un très grand nombre de bacilles et cela sans qu'il y eût de différence, à cet égard, entre les différentes cultures.

Nous avons pensé qu'il ne serait pas dénué d'intérêt de voir si ces cultures, conservées pendant un certain temps en les transplantant à intervalles égaux pendant plusieurs générations sur des terrains de culture artificiels, seraient notablement modifiées dans leur virulence. Dans ce but nous pratiquâmes tous les 5 jours un ensemencement sur gélatine (préparée de la même manière que celle qui avait été employée dans la série précédente) de chacune des cultures, en les tenant à une température de 20° à 22°. Après 4 mois la virulence de chaque bacille fut de nouveau éprouvée au moyen de cultures de 3 jours dans le bouillon habituel, tenues à 28°-30°, que l'on injectait dans la cavité péritonéale des animaux en quantité proportionnelle à leur poids. Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau II.

TABLEAU II

QUANTITÉ INOCULÉE EN 0/0 du poids de l'animal	MASSAUA		HAMBOURG		PARIS		NAPLES A		NAPLES B	
	NOMBRE DES		NOMBRE DES		NOMBRE DES		NOMBRE DES		NOMBRE DES	
	cobayes inoculés	cobayes morts	cobayes inoculés	cobayes morts	cobayes inoculés	cobayes morts	cobayes inoculés	cobayes morts	cobayes inoculés	cobayes morts
0,20	4	2	4	—	4	—	4	—	4	1
0,40	2	1	2	—	2	—	2	1	2	2
0,60	2	2	2	—	2	—	2	2	2	2
0,90	0	0	2	2	2	2	0	0	0	0

Il résulte de ce tableau que la virulence de toutes les cultures, excepté celle de Massaua, vint à augmenter et que les différences entre la virulence des différentes cultures devinrent moins considérables qu'elles ne l'étaient au début. Pour la culture de Massaua, au contraire, on pour-

rait noter une légère diminution de sa virulence; en effet, tandis qu'au début elle tuait indistinctement tous les cobayes à la dose de 0,2-0,3 p. 100, cette même dose et même une dose de 0,4 laissèrent, plus tard, survivre la moitié des animaux et il fallut une dose de 0,6 p. 100 pour amener sûrement la mort, de telle façon que le choléra B de Naples acquit une virulence égale à celle du bacille de Massaua.

B. — *Rapport entre la virulence et la quantité d'azote*

On admet généralement que les substances toxiques, résultant des échanges nutritifs des bactéries ou parties constituantes de leur organisme, et à l'action desquelles on attribue les divers degrés de toxicité et de virulence des bactéries, appartiennent aux substances azotées et, d'après la plupart des auteurs, aux substances protéiques. Il n'est, par conséquent, pas étonnant qu'en étudiant la virulence diverse des différentes variétés d'une même bactérie l'attention de l'expérimentateur soit conduite à établir le rapport entre la teneur en azote des diverses bactéries et leur degré de virulence, qui pourrait être dû à la teneur plus grande en substances azotées de la bactérie même. Cependant un résultat négatif n'exclurait pas que la virulence soit due à des substances azotées, mais donnerait le droit d'admettre que leur toxicité, une des causes de la virulence des bactéries, est liée non seulement à leur quantité, mais aussi à des variations dans la disposition moléculaire ou à une substance spéciale contenue en petite quantité relativement à la somme des combinaisons azotées des bactéries. De toute façon la bactériologie ne possède que peu de notions au sujet de la constitution chimique des bactéries et les recherches les plus intéressantes, celles qu'a faites récemment Cramer, ne comprennent pas le bacille du choléra. Pour ces motifs nous avons entrepris la détermination de l'azote pour les différents bacilles cholériques ayant servi à nos recherches en procédant de la façon suivante : appréciant les justes

observations de Cramer, nous avons choisi l'agar comme terrain de culture, mode de faire qui, en outre d'autres avantages, permet de recueillir les cellules des bactéries à l'exclusion, autant qu'il est possible de le faire, de leurs produits.

Dans des tubes hauts de 20 centimètres et d'un diamètre de 4 1/2 centimètres, stérilisés et fermés à la ouate, nous versions 30 centimètres d'agar nutritif. Celui-ci était préparé avec du bouillon de viande, additionné de 1 p. 100 de peptone, de 0,5 p. 100 de chlorure de sodium, de 2 p. 100 d'agar et de 0,3 p. 100 de carbonate de soude, ce dernier étant ajouté après neutralisation. Après les avoir remplis d'agar on stérilisait les tubes 3 jours de suite et on laissait l'agar se consolider en surface inclinée, après quoi ils étaient tenus pendant 48 heures à l'étuve à 37° pour enlever toute l'eau de condensation. On ensemençait ensuite pour chaque série et pour chaque bacille 3 tubes avec 3 gouttes de bouillon de culture de 48 heures, en opérant de façon à humecter toute la surface de l'agar. Les tubes placés horizontalement étaient maintenus durant 48 heures à la température de 28° à 30°. A ce moment, la végétation était telle que la culture recouvrait toute la surface de l'agar. Après avoir constaté sa pureté au moyen de préparations microscopiques, la végétation de chaque bacille dans les trois tubes était portée au moyen d'une aiguille de platine dans une très petite capsule de platine, en ayant toujours très soin de n'enlever aucune parcelle d'agar, ce dont nous avons pu nous convaincre par l'aspect de la surface dénudée de l'agar qui ne présentait pas la moindre solution de continuité. Les capsules qui avaient d'abord été tarées étaient, de suite après la récolte des cultures, maintenues à 100° dans l'étuve à eau pendant 4 heures et ensuite pendant 18 heures dans un exsiccateur. De la sorte la dessiccation des cultures était complète. Les capsules étaient alors pesées entre deux verres de montre pour déterminer la quantité de substance. Après cela on procédait à la détermination de l'azote d'après la méthode de Kjehldal avec la modification de Gunning, méthode qui nous a toujours donné des résultats parfaitement exacts, comme nous avons pu nous en convaincre en l'employant

maintes fois pour déterminer l'azote dans l'urée et l'acide urique.

Il est inutile d'ajouter que nous avons, à tous égards, opéré de manière à ce que les analyses fussent faites dans des conditions parfaitement identiques, et que pour toutes indistinctement on employait les mêmes réactifs qui avaient servi précédemment.

Le tableau III expose les résultats de 4 séries d'analyse.

TABLEAU III

	PREMIÈRE SÉRIE				DEUXIÈME SÉRIE			
	QUANTITÉ de la SUBSTANCE sèche	AZOTE contenu	AZOTE en 0/0	SUBSTANCES PROTÉIQUES 0/0 (N. × 6,25)	QUANTITÉ de la SUBSTANCE sèche	AZOTE	AZOTE en 0/0	SUBSTANCES PROTÉIQUES 0/0 (N. × 6,25)
Massaua.	0,1415	0,01559	11,01	68,81	0,1273	0.01399	10,38	68,62
Hambourg.	0,1162	0,01598	13,75	85,93	0,1249	0,01809	14,48	90,50
Paris.	0,1256	0,01567	12,47	77,93	0,1447	0.01593	11,00	68,75
Naples A.	—	—	—	—	0,1407	0,01910	13,57	84,81
Naples B.	0,1190	0,01225	10,29	64.31	0,0986	0,00989	10.02	62,65
	TROISIÈME SÉRIE				QUATRIÈME SÉRIE			
Massaua.	0,1364	0,01500	10,92	68,25	0,1195	0,01535	12,84	80,25
Hambourg.	0,0713	0,00833	11,68	72,90	0,1018	0,01422	13,96	87,24
Paris.	0,0940	0,01122	11,97	74,71	0,1079	0,01552	14,37	89,81
Naples A.	0.1079	0,01158	10,73	67,06	0,0968	0,01357	14,04	87,67
Naples B.	0,1167	0,01195	10,23	63,93	0,0990	0,01320	13,32	83.23

L'examen de ces résultats nous montre que la quantité d'azote varie suivant les différents bacilles et que l'on ne peut établir aucun rapport entre leur teneur en azote et leur virulence. On voit également que dans les cultures du même bacille faites à diverses époques, mais dans les mêmes conditions, la teneur en azote peut varier chaque fois. Il y aurait cependant peut-être lieu de relever que ce sont même les cultures de Massaua qui, quoique les plus virulentes, ont accusé relativement une moindre teneur en azote.

C. — *Limites et intensité des échanges nutritifs*

Parmi les conditions qu'on pourrait peut-être considérer comme une des causes des différences dans la virulence et la toxicité des diverses bactéries cholérigènes, on pourrait aussi comprendre l'intensité de leurs échanges nutritifs à l'énergie desquels seraient dus des produits différents par leur composition ou par leur quantité. Cette hypothèse mériterait sans doute d'être étudiée à fond et elle servirait peut-être à élucider quelques points encore obscurs dans la biologie du bacille cholérique. Nous avons dû nous borner à rechercher s'il y avait un lien entre la consommation des substances solides de la part de ces divers bacilles et leur virulence, et dans quelle progression cette consommation se réalise aux diverses époques des cultures.

Nous avons préparé du bouillon de la façon habituelle et l'avons distribué, dans des tubes de verre inattaquable neufs, à la dose exacte de 10 centimètres cubes. Chaque bacille prélevé en même quantité d'une des cultures de gélatine fut ensemencé dans 4 tubes de bouillon et les cultures furent tenues à la température de 28°-30°. Après cela nous procédâmes à l'analyse du résidu des 4 tubes de bouillon pur en versant le contenu de chaque tube dans une capsule de platine tarée et en le faisant dessécher au bain-marie à 100° et ensuite dans l'exsiccateur. Après avoir

pesé les capsules on répétait la pesée au bout d'un nouveau séjour de 24 heures dans l'exsiccateur et ainsi jusqu'à poids constant. Il est superflu d'ajouter que les tubes étaient soigneusement et plusieurs fois rincés avec de l'eau distillée. D'après la même méthode nous analysâmes ensuite le résidu des tubes ensemencés, et cela à différents moments. Il ressort avant tout des résultats que nous résumons dans le tableau IV que la consommation des substances solides dans les diverses cultures ne présente pas de grandes différences et que celles-ci ne deviennent pas non plus visibles dans un état plus avancé des cultures. Il en résulte, par contre, avec évidence pour tous les cinq bacilles, que la consommation augmente en proportion directe de l'âge des cultures et qu'elle est relativement assez considérable. Mais ce qui est le plus intéressant ,c'est que l'on ne peut établir aucune connexion entre l'intensité de la consommation et le degré de virulence de ces différents bacilles.

TABLEAU IV

BOUILLON PUR	
1er tube. . .	0,2645
2e tube. . .	0,2661
3e tube. . .	0,2663
4e tube. . .	0,2657
Moyenne. . .	0,2654

	APRÈS 60 HEURES		APRÈS 8 JOURS		APRÈS 15 JOURS	
	diminution	consommation	diminution	consommation	diminution	consommation
Massaua	0,2605	0,0049	0,2458	0,0196	0,2317	0,0337
Hambourg	0,2640	0,0014	0,2477	0,0177	0,2345	0,0309
Paris	—	—	0,2463	0,0191	0,2280	0,0374
Naples A.	0,2580	0,0074	0,2493	0,0161	0,2285	0,0369
Naples B.	0,2628	0,0026	—	—	0,2306	0,0348

D. — *Consommation d'azote*

En raison de l'importance que les substances azotées présentent pour la biologie des bactéries, il nous a paru utile d'examiner la consommation d'azote de la part de ces 5 bacilles, pour pouvoir juger s'il y avait un rapport entre cette consommation et leur virulence et voir quelle part l'azote a dans l'ensemble des substances consommées par eux.

Pour faciliter l'emploi de la méthode de Kjehldal que nous avions adoptée avec les règles précédemment décrites, nous avons cru opportun de procéder de la manière suivante :

Dix-huit ballons tout à fait neufs, d'une contenance d'environ 400 centimètres cubes, à long col, tels qu'on les emploie d'habitude pour la détermination de l'azote, d'après Kjehldal, bouchés à la ouate et stérilisés, reçurent chacun exactement 15 centimètres cubes de notre bouillon ordinaire et furent maintenus de façon à empêcher l'évaporation et la concentration de ce dernier. Pour chaque bacille, on ensemença 3 ballons en inoculant dans le bouillon, au moyen de la même anse de platine, une égale quantité de culture de 3 jours dans du bouillon. Les ballons furent tenus légèrement inclinés à la température de 28° à 30°. On détermina alors l'azote du bouillon des 3 ballons non ensemencés, ce qui se fit en le faisant évaporer, après acidification avec une goutte d'acide sulfurique, à une température de 70° à 80° jusqu'à consistance sirupeuse et en procédant ensuite par la méthode de Kjehldal. Nous fîmes de même à différents moments pour les ballons ensemencés dans lesquels nous pûmes constater déjà après une première période de 60 heures un abondant développement. Le tableau V donne les résultats.

Tableau V

1er bouillon.	0,0434
2e bouillon.	0,0433
3e bouillon.	0,0434
Moyenne . .	0,0433

	Après 60 heures		Après 5 jours		Après 10 jours	
	diminution	consommation	diminution	consommation	diminution	consommation
Massaua	0,0423	0,0010	0,0419	0,0014	0,0402	0,0031
Hambourg	0,0425	0,0008	0,0416	0,0017	0,0412	0,0021
Paris	0,0420	0,0013	0,0409	0,0024	0,0409	0,0024
Naples A.	0,0429	0,0004	0,0412	0,0021	0,0403	0,0030
Naples B.	0,0425	0,0008	0,0415	0,0018	0,0412	0,0021

Nous relevons dans ce tableau qu'avec la diminution progressive déjà notée du résidu marche de pair aussi la diminution de l'azote. Celle-ci toutefois n'est en aucune connexion avec la virulence diverse des différents bacilles et n'a pas non plus de rapport avec la teneur de ces derniers en substances protéiques.

On pourrait déduire de la comparaison entre les chiffres relatifs à la consommation en général et ceux relatifs à la consommation de l'azote que le rapport entre ces deux s'est maintenu dans de certaines limites, pour les séries qui concernent les cultures de plusieurs jours, en sorte que l'on pourrait en conclure que la consommation de l'azote est à la consommation générale comme 6-10 est à 100, tandis que dans les cultures analysées après 60 heures la consommation d'azote aurait été plus marquée, sauf pour la culture de Naples A.

E. — *Réciprocité du pouvoir immunisant*

Nos recherches sur le pouvoir immunisant réciproque

des 5 bacilles n'ont pas été nombreuses, nous étant bornés à constater si les cultures de l'un de ces bacilles inoculées aux animaux leur conféraient l'immunité à l'égard d'injections de cultures des autres bacilles.

Nous inoculâmes avec des doses de 1 1/2 fois la dose mortelle du choléra de Massaua 5 cobayes auxquels nous avions injecté, 5 jours auparavant, dans la cavité péritonéale la moitié de la dose mortelle des cultures d'autres bacilles, savoir à 2 cobayes le bacille de Hambourg et aux trois autres le bacille de Naples A. Tous ces cobayes survécurent.

Trois autres cobayes reçurent le double de la dose mortelle de culture de Paris, après avoir subi, 5 jours auparavant, l'injection dans la cavité péritonéale, l'un de la moitié de la dose mortelle de la culture de Massaua et les 2 autres de la moitié de la dose mortelle de la culture du bacille de Hambourg. Ces 3 cobayes restèrent en vie.

Trois cobayes furent inoculés avec 1 fois 1/2 la dose mortelle de culture de Naples A, après avoir, 5 jours auparavant, reçu une injection dans la cavité péritonéale des cultures des autres bacilles, savoir : 2, la moitié de la dose mortelle du bacille de Paris, et le 3e la moitié de la dose mortelle du bacille de Massaua. Tous ces cobayes survécurent.

Cinq cobayes reçurent dans la cavité péritonéale une injection de 1 fois 1/2 la dose mortelle de la culture B de Naples, après des injections pratiquées, 5 jours auparavant, de la moitié de la dose mortelle du bacille de Hambourg sur 2 cobayes, du bacille de Naples A sur 2 autres et du bacille de Paris sur le dernier. Les 5 cobayes survécurent.

Deux cobayes enfin furent inoculés avec le double de la dose mortelle du bacille de Hambourg après injection préalable, 5 jours auparavant, de la moitié de la dose mortelle du bacille de Paris. Les 2 cobayes restèrent en vie.

Il résulterait donc de ces expériences qu'en maintenant un rapport constant, calculé en 0/0 au poids de l'animal, entre les doses des diverses cultures inoculées aux ani-

maux en vue de les rendre réfractaires, on observe constamment un pouvoir réciproque d'immunisation à l'égard des bacilles d'autre provenance.

Nous croyons pouvoir conclure des résultats de nos recherches :

1° Que la virulence du bacille du choléra peut varier et même de beaucoup suivant sa provenance, et que la virulence se modifie plus ou moins dans la suite par des ensemencements successifs sur un terrain de culture artificiel (gélatine et bouillon) ;

2° Que la quantité d'azote varie, non seulement pour les différents bacilles en raison de leur provenance, mais aussi pour le même bacille, que les limites de ces variations sont assez larges, et qu'il n'existe aucun rapport entre la teneur en azote et la virulence des différents bacilles ;

3° Que l'échange nutritif des bacilles, représenté par la diminution du résidu sec de leurs cultures, ne présente pas beaucoup de variations en rapport avec leur provenance et qu'il augmente progressivement avec l'âge des cultures ;

4° Que la consommation de l'azote dans les cultures suit la même gradation que la consommation en général des substances solides, si ce n'est qu'elle paraît, relativement, s'accentuer avec le temps ;

5° Que les cultures des bacilles de provenance diverse possèdent pour les animaux d'expérience un pouvoir immunisant réciproque, en rapport avec leur virulence.

ÉTUDE SUR LA FERMENTATION AMMONIACALE ET SUR LES FERMENTS DE L'URÉE (*suite*) (1)

Par le Dr P. MIQUEL

Préparation du ferment soluble de l'urée

L'obtention d'un corps dont on ne soupçonne pas à l'avance les propriétés physiques et chimiques reste toujours entourée de grandes difficultés, par la raison que les manipulations auxquelles on se livre pour le préparer sont, pour ainsi dire, aveugles, et à ce titre elles peuvent nuire au rendement du corps nouveau dont on veut obtenir de notables quantités, et quelquefois, on peut l'affirmer également, ces manipulations sont fatales pour le corps lui-même, le détruisent au lieu de le séparer des milieux où il se trouve mélangé.

Les opérations les plus simples : la filtration, la concentration, qui sont si fréquemment employées par le chimiste, ne sont pas sans exercer une action néfaste sur certaines substances éminemment altérables. Il est des corps qui sont pour ainsi dire immanipulables ; l'air, l'humidité, un degré de chaleur quelque peu notable les détruisent avec rapidité. Du moins, en chimie minérale et organique, on recueille ou on peut recueillir les éléments résultant de la décomposition de ces substances instables ; mais, quand il s'agit d'une substance albuminoïde, d'une constitution aussi peu connue que celle des toxines et des diastases, les éléments qui résultent de sa destruction restent indéterminables par l'expérimentateur, en tout cas peu faciles encore à déterminer.

L'urase appartient à la classe des diastases, dont la pré-

(1) Voir les tomes précédents de ces *Annales*.

paration, d'abord difficile pour celui qui n'a aucune notion sur ses propriétés, devient très aisée quand on en connaît les principales. Il faut savoir : que le ferment soluble de l'urée est très oxydable, surtout dans sa jeunesse ; que toutes les substances qui le précipitent (alcool, sels de chaux, etc.) le détruisent en grande partie, sinon en totalité ; qu'il est à peu près infiltrable et inconcentrable lorsqu'il date de moins d'une semaine, et qu'enfin les bouillons sur lesquels on opère, eu égard à cette extrême altérabilité, doivent être fortement chargés d'urase par des ferments figurés très actifs.

Pour préparer des quantités notables de ferment soluble de l'urée, on peut se servir du vase à culture représenté par la figure 1.

A un flacon de 3 à 6 litres de capacité on adapte un bouchon de caoutchouc portant deux tubes de verre, l'un T′ court et légèrement ceintré, l'autre T recourbé en col de cygne et dont la branche intérieure plonge jusqu'au fond du flacon.

Le tube court T′ est muni d'une bourre de ouate.

Le tube en col de cygne T reçoit, à son extrémité extérieure effilée, un système formé d'une petite allonge de verre soufflée P, portant une tubulure latérale *b* et se terminant par une effilure *f*, dont la section est moindre que celle qui termine le tube recourbé plongeant dans cette petite allonge.

Fig. 1. — V, vase à culture. — T′, tube abducteur. — T, tube siphon. — P, entonnoir. — *b*, tubulure latérale garnie de ouate. — $i > f$, pointe ouverte du tube siphon. — $f < i$, douille effilée de l'entonnoir.

Ce système permet de diriger un courant d'air filtré à travers la culture, et d'opérer à tous ses âges des prélèvements de liquide, en évitant les causes vulgaires de contamination.

Pour préparer de l'urase, on stérilise à l'autoclave, à

110°, un semblable flacon aux trois quarts plein de bouillon de peptone ordinaire, c'est-à-dire à 2 p. 100 ; le système refroidi, après avoir enlevé la bourre du tube T', on introduit dans ce bouillon les germes des ferments de l'urée, et cette bourre replacée, le système est porté à l'étuve à 30°, en prenant la précaution de faire plonger la pointe *f* de l'allonge dans une petite éprouvette contenant du mercure.

Lorsque le ferment figuré de l'urée s'est sensiblement développé, on dirige, très lentement dans le bouillon et bulle à bulle, au moyen d'une petite trompe à eau, un courant d'air continu ou discontinu. L'air pénètre en se filtrant par la tubulure *b*, passe dans l'allonge P, puis se rend par le tube T dans le flacon qu'il traverse de bas en haut, en barbotant ; finalement, il s'échappe par le tube T', auquel est adapté le caoutchouc de la trompe aspirante.

Ce courant d'air a pour but d'activer la multiplication des urobactéries et d'éliminer l'acide carbonique qui résulte de la combustion du carbone par l'oxygène, sous l'influence des microorganismes.

De temps en temps, on prélève de la culture une vingtaine de centimètres cubes de liquide, dont on dose la teneur en diastase. Quand cette dernière se montre, à mélange égal de volume d'eau, en quantité assez grande pour déterminer en une heure l'hydratation de 40 à 50 grammes d'urée par litre, l'opération peut être considérée comme terminée.

Le flacon est retiré de l'étuve ; on y dirige pendant une demi-heure un courant de gaz à éclairage et, finalement, on laisse la culture vieillir au contact de ce gaz.

Avant d'aller plus loin, j'entrerai dans quelques détails pratiques, auxquels se trouve subordonné le succès de la préparation.

Bien que tous les ferments de l'urée soient capables de fournir une quantité sensible d'urase, il faut s'adresser de préférence aux plus actifs, soit à l'*Urobacillus Pasteurii*, soit à l'*Urobacillus Duclauxii ;* mais, comme ces bacilles ne se développent pas dans le bouillon de peptone ordinaire, à moins qu'il ne soit assez fortement alcalinisé, il est donc indispensable d'additionner le milieu de culture

d'une solution de carbonate d'ammonium stérilisée au préalable à la bougie Chamberland ou, ce qui est beaucoup plus simple, d'introduire par le tube T′ du flacon, 3 à 4 centimètres cubes par litre de bouillon d'une fermentation achevée avec le ferment qu'on désire semer ; l'alcalinisation et l'ensemencement se font ainsi simultanément, et je déclare n'avoir jamais eu un seul insuccès en opérant dans ces conditions.

Le courant d'air doit être dirigé avec beaucoup de ménagement dans les bouillons de culture, le volume d'air aspiré ne doit pas dépasser une vingtaine de litres par jour avec les ferments actifs ; au contraire, le courant doit être intermittent, et le volume d'air dirigé dans le flacon de 2 à 3 litres en 24 heures, si le ferment figuré appartient à la classe des espèces urophages peu énergiques.

Voici, maintenant, comment on peut procéder aux prélèvements successifs destinés à faire connaître à l'expérimentateur la richesse du bouillon de culture en urase :

Le flacon est momentanément sorti de l'étuve, la pointe de l'allonge retirée du mercure est nettoyée et flambée. On adapte au tube T′ un tube de caoutchouc muni d'une poire comprimant l'air et au moyen de laquelle on exerce à la surface du liquide une pression assez forte pour faire jaillir le liquide par l'ouverture 1 du tube en col de cygne. Le liquide s'élève dans l'intérieur de l'allonge, en même temps qu'il s'échappe par la pointe *f*. Cette accumulation du liquide dans le corps de l'allonge est due à l'inégal diamètre des sections des tubes effilés.

Quand le volume désiré de bouillon diastasifère est extrait du flacon, on décomprime lentement la poire de caoutchouc, le siphon à branche courte se désamorce, pour cela il emprunte l'air nécessaire à cette opération à l'atmosphère par l'intermédiaire de la tubulure latérale de l'allonge, munie d'une bourre de ouate qui le purge de tout microorganisme. Pendant ce temps, l'allonge achève de se vider. Si l'on n'a pas de poire de caoutchouc à sa disposition, on peut simplement se servir d'un tube de caoutchouc à l'extrémité duquel on souffle avec ménagement. Un exercice préalable montre comment cette manipulation doit être conduite.

La pointe *f* de l'allonge égouttée et séchée, on la flambe, on la plonge de nouveau dans le mercure, et le flacon est replacé à l'étuve à 30° où la culture se poursuit dans les mêmes conditions que précédemment.

Quant aux essais, il y a bien des manières de les pratiquer ; j'indiquerai seulement ici le *modus faciendi* que j'ai adopté.

Dans des tubes à essais de 45 à 50 centimètres cubes de capacité, bouchés à l'émeri, j'introduis, avec une pipette jaugée, 20 centimètres cubes du bouillon à doser en diastase et, immédiatement après, 20 centimètres cubes d'une solution titrée d'urée pure dans l'eau distillée à 12 p. 100. On obtient donc dans le tube à essais une sorte d'urine artificielle diastasique riche de 60 grammes d'urée par litre. Le mélange rapidement effectué à la température ambiante, on en prélève, avec une pipette jaugée, 5 centimètres cubes, dont on dose l'alcalinité. C'est le titre de départ en ammoniaque de cette urine artificielle qu'on devra retrancher de tous les résultats ultérieurement obtenus. Enfin, le tube à essais est plongé dans un bain-marie dont la température doit être assez rigoureusement maintenue vers 49°.

Exemples de dosages de quelques solutions d'urase

		Urée hydratée par litre :				
à 48°-50°	I	II	III	IV	V	VI
Après 1 heure	7 gr 4	7 gr 4	»	»	»	12 gr 1
» 2 heures	18 1	18 8	25 gr 3	29 gr 6	24 gr 2	21 4
» 3 »	26 0	29 9	37 8	47 5	39 3	31 8

	Urée hydratée par litre :					
à 48°-49°	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Après 1 heure	9 gr 6	8 gr 2	16 gr 8	11 gr 8	11 gr 4	13 gr 6
» 2 heures	19 6	16 1	31 4	23 9	20 7	23 2
» 3 »	»	»	»	»	»	»
» 4 »	38 3	24 3	48 2	27 8	24 3	25 7

Les échantillons I et II proviennent de deux cultures du *Micrococcus Van Tieghemi* effectuées simultanément et âgées de 8 jours.

Les échantillons III, IV et V ont été prélevés dans trois cultures d'*Urobacillus Duclauxii*, vieilles de 14 jours et effectuées simultanément sans afflux artificiel d'air.

Les échantillons X, XI et XII proviennent de trois cultures mises en marche au même instant avec l'*Urobacillus Freudenreichii*, vieilles de 6 jours et parcourues par un courant d'air à raison de 10 litres par 24 heures.

Si le bouillon de culture est semé avec l'*Urobacillus Pasteurii* et parcouru les jours suivants par un courant d'air de 10 à 20 litres par 24 heures, la quantité d'urase produite est bien supérieure à celle qu'indiquent les expériences précédentes. Comme exemple, je donnerai les résultats d'une série d'essais pratiqués journellement du 16 au 21 août 1889.

Urée hydratée en 1 heure	après	1 jour de culture. .		15 grammes.	
»	»	2	» . .	36	»
»	»	3	» . .	54	»
»	»	4	» . .	71	»

Malheureusement ces expériences ne peuvent être poursuivies beaucoup plus loin, par la raison que l'urée dont on charge le bouillon et le carbonate d'ammoniaque formé deviennent antiseptiques pour la diastase ; on a, il est vrai, la faculté d'étendre d'eau le bouillon chargé d'urase à 1/3 à 1/4, etc. ; mais alors on détruit, comme on le verra plus bas, l'activité du ferment soluble dans de très grandes proportions.

Je terminerai ces remarques par un dernier exemple de préparation d'une solution d'urase avec le bacille dédié à M. Duclaux, pendant laquelle il n'y a eu d'autre afflux d'air que celui qui pouvait résulter des échanges gazeux entre les gaz du flacon de la culture et l'atmosphère extérieure à travers une bourre de coton contenue dans un tube de verre de 5 millimètres de diamètre intérieur.

		Urée disparue par litre			
48°-50°	culture au 6ᵉ j.	culture au 7ᵉ j.	culture au 8ᵉ j.	culture au 9ᵉ j.	culture au 10ᵉ j.
Après 1 heure	10gr 0	11gr 4	17gr 5	17gr 9	18gr 5
» 2 heures	18 9	22 8	30 3	36 4	40 3
» 3 »	23 6	29 8	37 1	43 6	50 0

En comparant les chiffres fournis par les dosages de cette culture, échelonnés régulièrement toutes les 24 heures à partir du 6e jour, on constate, en faisant entrer seulement en ligne de compte les résultats obtenus à la 3e heure, que du 6e au 7e jour le pouvoir hydratant du bouillon croît de 6 gr. 2 ; du 7e au 8e, de 7 gr. 3 ; du 8e au 9e, de 6 gr. 5 ; et du 9e au 10e jour, de 6 gr. 4 ; soit, en moyenne et assez régulièrement, de 6 gr. 5 par jour. Donc, quand on ne veut pas obtenir de grandes quantités de ferment soluble, on peut mener une culture à la manière ordinaire, en ayant, toutefois, le soin de laisser au-dessus du liquide des vases un volume d'air assez considérable, au moins égal au volume du bouillon mis en expérience.

Lorsqu'on veut obtenir une solution d'urase destinée aux recherches courantes, aux dosages uréométriques, on peut arrêter la marche de la culture dès que le bouillon se montre capable d'hydrater, en 1 heure et à 48°-50°, une quantité d'urée comprise entre 15 et 20 grammes. Si on désire obtenir des quantités très élevées de ce même ferment soluble, on activera les cultures au moyen d'un courant d'air atmosphérique. Je n'ai aucune donnée précise sur la quantité d'urase qu'on peut ainsi accumuler dans un litre de bouillon ; d'après plusieurs essais effectués en étendant d'eau les liquides saturés de diastase, je pense que la quantité de ferment soluble que peut sécréter l'*Urobacillus Pasteurii*, dans un litre de bouillon peptonisé à 2 p. 100, est capable d'hydrater en 3 heures de temps 500 à 600 grammes d'urée.

Dans les expériences autres que les essais qui viennent d'être indiqués, les solutions diastasiques seront employées après avoir été au préalable débarrassées des microbes qui les ont fabriquées. Pour certaines études très délicates sur les qualités de l'urase à l'état naissant, on pourra se dispenser de cette précaution en ayant soin, dans ce cas particulier, de maintenir, durant tout le temps des expériences, le mélange des solutions d'urase et d'urée à une température supérieure à 48°. En effet, à ce degré de chaleur, les Urobacilles de Pasteur et de Duclaux, qui produisent la fermentation de l'urée à des températures bien plus élevées que les autres espèces urophages, ne peuvent

déterminer la moindre décomposition de carbamide au-delà de 46°. Pour vérifier ce fait, il suffit de prélever une partie de culture de ces urobacilles le lendemain de son début, de la charger de 60 p. 100 d'urée et de la placer à 48°-50°. En moins d'une heure, on constate habituellement que cet échantillon peut transformer de 5 à 10 grammes d'urée en carbonate d'ammoniaque ; à partir de ce moment, les dosages subséquents accusent une alcalinité constante quelle que soit la durée de l'exposition à 48°-50°. Si on abaisse la température du bain à 36°-40° par exemple, la fermentation ammoniacale s'établit avec l'allure qui caractérise l'urobacille semé dans le bouillon.

Lorsqu'on filtre à la bougie Chamberland un liquide de culture d'urobacille ou d'urocoque âgé de 2 à 3 jours accusant une quantité d'urase capable d'hydrater au bout de quelques heures 25 à 30 grammes d'urée par litre, le liquide filtré se montre ordinairement inactif, quand on opère sur un volume ne dépassant pas plus d'un millier de centimètres cubes. C'est au phénomène d'oxydation et, aussi, d'absorption du ferment soluble par la terre poreuse qu'il faut attribuer ce résultat négatif ; résultat qui a porté M. Leube et bien d'autres expérimentateurs, au nombre desquels je me place, à douter pendant longtemps de l'existence du ferment soluble de l'urée.

Dès que j'eus constaté que l'oxydation et la filtration à travers le biscuit pouvaient détruire totalement la quantité d'urase sécrétée dans les bouillons par les urobactéries, je construisis un appareil où la filtration s'exécutait entièrement à l'abri de l'air atmosphérique, dont l'action néfaste sur les diastases jeunes n'est pas niable comme on le verra plus bas. Cet appareil a été décrit et figuré, il y a 3 ans, dans l'*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'année 1891, page 539, figure 46.

J'en reproduis ci-après le dessin (*fig.* 2) accompagné d'une brève description :

Dans le vase A sont placées les cultures à filtrer ; de là elles s'écoulent par le robinet M dans l'éprouvette B, où plonge la bougie en biscuit F. Sous l'action du vide produit en V, le liquide passe stérilisé dans le récipient C. Par un système de tubes abducteurs représentés dans la

figure 2, on fait circuler du gaz à éclairage qui sert, au début de l'opération, à expulser tout l'air atmosphérique et qui empêche ultérieurement cet air de pénétrer dans le système, où le gaz afflue librement sous la pression qu'il possède dans la canalisation urbaine.

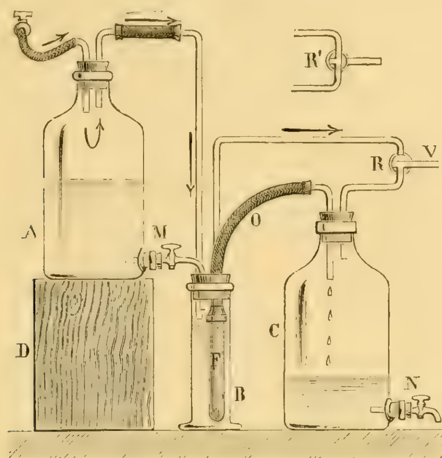


Fig. 2. — Appareil pour filtrer les diastases à l'abri de l'oxygène de l'air.

D, socle en bois. — A, flacon contenant les bouillons de culture. — M, robinet de vidange alimentant l'éprouvette B. — F, bougie en biscuit. — O, caoutchouc à vide pour conduire les liquides filtrés et stérilisés dans le flacon C. — N, robinet de vidange du liquide filtré. — R, disposition du robinet à trois voies au moment où l'on produit le vide. — R', robinet à trois voies au moment où le vide est interrompu et le gaz à éclairage introduit dans le flacon C. Les flèches de la figure indiquent la marche de ce gaz dans l'appareil.

Mes recherches ultérieures sur les propriétés de l'urase m'ont permis de simplifier ce dispositif et de le ramener à celui qu'on utilise journellement dans les laboratoires de bactériologie, à la condition, toutefois, de n'opérer qu'avec des diastases déjà âgées, c'est-à-dire vieilles de 10, 20, 30 jours ou davantage.

Donnons quelques exemples des pertes que fait subir la stérilisation par le biscuit aux solutions du ferment soluble de l'urée.

Voici un bouillon vieilli pendant 6 jours au contact du gaz à éclairage ; il est dirigé sous le volume de 3 litres à travers une bougie de porcelaine.

Deux essais parallèles fournissent les résultats suivants :

à 48°-50°	Urée disparue par litre dans le bouillon avant sa filtration	Urée disparue par litre dans le bouillon après sa filtration
Après 1 heure	17gr 4	15gr 5
» 2 heures	25 6	23 5
» 3 »	34 6	31 4

La filtration au contact de l'air a fait perdre à la solution d'urase 3,2 de son pouvoir hydratant primitif égal à 34,6, soit environ 9,2 p. 100 de son énergie.

Une autre expérience de filtration pratiquée avec un volume de solution diastasique brut égal à 2 litres 750, âgée de 15 jours et due au *Micrococcus Van Tieghemi*, a permis d'enregistrer les données numériques qui suivent :

à 48°-50°	Urée disparue par litre dans le bouillon avant sa filtration	Urée disparue par litre dans le bouillon après sa filtration
Après 1 heure	10gr 7	9gr 9
» 2 heures	24 6	22 8
» 3 »	29 3	28 2

La perte du pouvoir hydratant de la solution est, seulement, dans ce cas d'environ 4 p. 100. Elle devient encore bien moins sensible quand les bouillons bruts qu'on dirige à travers le biscuit ont séjourné dans le gaz à éclairage pendant 1, 2 et 3 mois.

De la marche de l'hydratation de l'urée par l'urase

De nombreuses causes influencent nettement la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque, sous l'action du ferment soluble qui nous occupe. D'abord, la marche de cette hydratation offre une physionomie ou, plutôt, une allure spéciale que nous étudierons tout d'abord ; ensuite elle peut être entravée ou favorisée : par la température, la quantité d'urée dissoute dans les bouillons, etc. Nous réservons pour des chapitres particuliers l'étude des divers agents qui agissent directement sur l'urase, qui peuvent la modifier, la détruire ou encore exalter son action. Nous

désirons ne parler ici que de la marche du phénomène de la décomposition de l'urée par l'urase envisagée dans toute sa généralité.

Expérience I. — Dans un matras de 300 centimètres cubes de capacité, on introduit 150 centimètres cubes d'une solution d'urase filtrée âgée de 21 jours et 150 grammes d'une solution d'urée pure à 12 p. 100. Le matras est alors immergé au sein d'un bain-marie de 10 litres d'eau, réglé à 48°-50°; puis tous les quarts d'heure il est fait un dosage indiquant l'urée disparue.

à 48°-50°	Urée disparue par litre	Différence
Départ	0 gr 0	»
Après 15 minutes	1 6	1 gr 6
» 30 »	5 8	4 2
» 45 »	11 0	5 2
» 1 heure	16 2	5 2
» 1 h. 15	21 5	5 3
» 1 30	26 3	4 8
» 1 45	30 8	4 5
» 2 00	34 5	3 7
» 2 15	37 5	3 0
» 2 30	39 8	2 3
» 2 45	41 6	1 8
» 3 00	41 6	»

Expérience II. — Une nouvelle expérience est conduite de la même manière, mais avec une solution âgée seulement de 10 jours et beaucoup moins chargée d'urase. Les dosages sont pratiqués non plus tous les quarts d'heure, mais toutes les dix minutes.

à 48°-50°	Urée disparue par litre	Différence
Départ	0 gr 0	»
Après 10 minutes	1 7	1 gr 7
» 20 »	3 7	2 0
» 30 »	6 3	2 6
» 40 »	8 8	2 5
» 50 »	11 0	2 2
» 1 heure	12 9	1 9
» 1 h. 10	14 5	1 6
» 1 20	15 6	1 1
» 1 30	15 6	»

Expérience III. — Une dernière expérience est effectuée de la même manière avec une solution de ferment soluble un peu plus active et âgée de huit jours.

à 50°			Urée disparue par litre	Différence
Départ			0 gr 0	»
Après	5	minutes	1 1	1 gr 1
»	10	»	2 2	1 1
»	15	»	3 6	1 4
»	20	»	5 0	1 4
»	25	»	6 5	1 5
»	30	»	8 2	1 7
»	35	»	10 0	1 8
»	40	»	11 5	1 5
»	45	»	12 9	1 4
»	50	»	14 3	1 4
»	55	»	15 3	1 0
»	1	heure	16 2	0 9
»	1	h. 5	16 8	0 6
»	1	10	17 4	0 6
»	1	15	17 9	0 5
»	1	20	18 3	0 4
»	1	25	18 3	»

En examinant les chiffres des trois tableaux précédents et en partageant en trois périodes égales de temps la durée pendant laquelle se produit le phénomène de l'hydratation, on constate : que le poids de l'urée décomposé par le ferment soluble n'est pas proportionnel au temps; que cette décomposition débute rapidement, s'accélère, atteint un maximum au commencement de la deuxième période et va en déclinant du commencement de cette deuxième période à la fin de la troisième.

A quelles causes faut-il attribuer cette marche d'abord accélérée et plus tard retardée de l'hydratation de l'urée? L'élévation graduelle de a température de la solution immergée dans le bain-marie permet d'expliquer l'accélération initiale ; mais il est beaucoup plus difficile d'expliquer pourquoi l'hydratation traîne dans la dernière période de temps. Plusieurs hypothèses vraisemblables peuvent être invoquées à cet égard : d'un côté, l'urase s'épuise et agit à dose moins massive sur la quantité d'urée, qui devient

elle-même de plus en plus faible ; et, d'autre part, le carbonate d'ammoniaque qui s'accumule dans la liqueur devient toxique pour le ferment soluble ; en outre, comme dans les fermentations provoquées par les microbes urophages, le mélange des solutions d'urée et de diastase, d'abord limpide, se trouble dès que la quantité d'ammoniaque formée dans le mélange atteint une alcalinité correspondant à 8 à 10 grammes d'urée décomposée. La précipitation des sels insolubles qui s'opère à cet instant pourrait être aussi considérée comme une cause d'appauvrissement de la solution en diastase.

De toutes ces hypothèses, je préfère celle qui attribue le ralentissement de l'hydratation de l'urée à l'action caustique du carbonate d'ammonium sur l'urase. J'ai d'ailleurs pratiqué une expérience qui vient à l'appui de cette supposition.

Dans un vase clos, il est mélangé par parties égales une solution faible de diastase stérilisée, âgée de 7 jours et une solution d'urée à 2,5 p. 100. Le vase est, après un dosage initial, plongé dans la glace fondante et rigoureusement maintenu à 0°. A côté de ce vase, il en est placé un second contenant la solution diastasique mise en expérience, mais non additionnée d'urée ; l'énergie fermentaire de cette solution, le jour même de la mise en glacière, s'exprime par 20 gr. 7 d'urée décomposée en 2 heures à la température de 48°-50°.

Au bout de 24 heures, la fermentation par l'urase effectuée à 0° accuse une disparition d'urée égale à . . .	3 gr 2
Au bout de 48 heures, l'urée disparue est de .	7 9
» 72 » » . .	8 5
» 96 » » . .	8 5

Alors le vase où la fermentation s'est arrêtée est sorti de la glacière et immergé dans un bain-marie chauffé vers 49°. Le liquide contenu dans ce vase *se trouble* fortement : après 2 heures d'attente à cette température, le poids de l'urée disparue se montre, sans variations, égal à 8 gr. 5.

La solution diastasique témoin, également abandonnée pendant 96 heures à 0°, est encore capable de réduire, en

2 heures à 49°, 20 gr. 2 d'urée. D'un côté, la solution diastasique a été à peine touchée par le froid ; d'un autre côté, la même solution diastasique additionnée de carbamide a perdu plus de 50 p. 100 de son énergie primitive. Il semble difficile d'attribuer à une autre cause qu'à l'action du carbonate d'ammoniaque mis en liberté au début de l'hydratation cette déchéance de diastase à 0°. On pourrait aussi invoquer dans ce cas l'action antiseptique des 2,5 p. 100 d'urée dissous dans le bouillon mis à fermenter ; cette supposition me paraît moins vraisemblable que la première.

Cependant, la quantité d'urée dissoute dans le bouillon diastasique n'est pas sans avoir une influence sur l'hydratation de la carbamide ; c'est là un fait important à connaître, car un excès d'urée se joint au carbonate d'ammoniaque pour entraver le phénomène chimique qui nous occupe.

Expérience I. — Une solution d'urase filtrée, âgée de 13 jours, est introduite dans trois vases et reçoit respectivement 3, 5 et 10 grammes d'urée p. 100, puis ces vases, également remplis, de même forme, sont soumis à l'action d'une température de 48°-50°.

	Urée hydratée par litre dans la solution à		
48°-50°	3 p. 100	5 p. 100	10 p. 100
Après 1 heure	25gr 0	26gr 8	19gr 6
» 2 heures	28 6	35 7	22 8
» 3 »	28 6	39 3	23 2
» 4 »	28 6	39 3	23 2

Ainsi donc, la même solution d'urase, suivant qu'elle est chargée de 3, 5 et 10 p. 100 d'urée pure, accuse des énergies tout à fait différentes : une énergie de 28,6 dans la solution de 3 p. 100 d'urée, une de 39,3 dans les solutions à 5 p. 100 et seulement 23,2 avec les solutions à 10 p. 100 d'urée.

Ce fait était trop curieux pour ne pas être vérifié avec d'autres bouillons diastasiques, jeunes et âgés, riches et pauvres en ferment soluble.

Expérience II. — Quatre volumes égaux d'une solution faible de diastase filtrée, âgée de 6 jours, reçoivent

individuellement 2, 4, 8 et 16 p. 100 d'urée pure ; puis ces vases clos, de même forme, sont exposés pendant 3 heures dans le même bain-marie réglé à 48°-50°.

48°-50°	Urée disparue par litre dans la solution à 2 p. 100	4 p. 100	8 p. 100	16 p. 100
Après 1 heure	5 gr 7	10 gr 0	7 gr 9	5 gr 7
» 2 heures	11 1	18 9	14 3	7 1
» 3 »	14 6	23 6	17 9	8 2

Comme dans l'expérience précédente, les bouillons faiblement et fortement chargés d'urée sont ceux qui fournissent le moins de carbonate d'ammoniaque ; la solution, qui, dans cette expérience, a reçu 40 grammes d'urée par litre, accuse une énergie égale à 23,6; celle qui en a reçu 4 fois plus, c'est-à-dire 160 grammes pour 1,000 centimètres cubes, montre une énergie 3 fois plus faible.

Expérience III. — Ce groupe d'essais diffère peu des précédents, si ce n'est que la solution diastasique employée est plus âgée d'un jour que la précédente et les quantités d'urée dissoutes dans les bouillons plus voisines l'une de l'autre.

48°-70°	Urée disparue par litre dans les solutions à 2 p. 100	3 p. 100	4 p. 100	5 p. 100	8 p. 100
Après 1 heure	7 gr 9	10 gr 0	11 gr 4	11 gr 4	10 gr 4
» 2 heures	15 0	20 7	22 8	20 3	17 5
» 3 »	20 1	26 1	28 8	24 6	20 7

Dans cette série d'essais, la quantité d'urée la plus favorable à l'hydratation est voisine de 4 p. 100; la quantité 3 p. 100 d'urée se montre un peu plus favorable que 5 p. 100, et enfin 2 p. 100 et 8 p. 100 d'urée donnent des chiffres fort voisins (20,1 et 20,7) ; cependant, la solution diastasique chargée de 8 p. 100 offre une allure plus rapide au début.

Expérience IV. — J'ai également tenu à étudier l'action des quantités croissantes d'urée sur les solutions diastasiques, vieilles et douées d'une énergie notable. Pour abréger, je rapporterai une seule série d'essais effectués avec des quantités d'urée variant de 2 à 40 p. 100, dis-

soutes dans un bouillon de culture chargé de ferment soluble filtré et vieux de 32 jours (1).

48°-50°	Urée disparue par heure dans les solutions à 2 p. 100	3 p. 100	4 p. 100	5 p. 100	8 p. 100
Après 1 heure	10gr3	13gr2	18gr2	18gr1	17gr9
» 2 heures	19 8	28 6	35 0	34 3	34 6
» 3 »	23 5	30 2	40 2	45 7	49 3

48°-50°	Urée disparue par heure dans les solutions à 12 p. 100	16 p. 100	20 p. 100	30 p. 100	40 p. 100
Après 1 heure	14gr6	12gr5	4gr7	0gr7	0gr2
» 2 heures	26 4	19 0	4 7	1 8	0 2
» 3 »	30 7	20 0	5 1	1 8	0 2

Ainsi, une solution de diastase vieille de un mois, qui accuse un maximum d'énergie égal à 49,3 quand on l'additionne de 8 p. 100 d'urée, voit cette énergie s'atténuer de plus en plus et disparaître complètement quand la dose de carbamide va en croissant de 8 à 40 p. 100.

On peut maintenant s'expliquer pourquoi, dans les expériences rapportées antérieurement sur le pouvoir hydratant de l'*Urobacillus Pasteurii*, à partir de la dose de 20 à 30 p. 100 d'urée accumulée dans les urines artificielles, la fermentation ne débutait que faiblement ou pas du tout. Effectivement, on doit reconnaître que si la quantité d'urée dissoute dans les urines s'élève à de très hautes doses, leur fermentation est impossible, alors même que les ferments figurés peuvent s'y développer.

En considérant le poids de l'urée décomposée durant la première et deuxième heure, dans les bouillons diastasiques contenant 2, 3 et 4 p. 100 de carbamide, on observe que la diastase agit avec d'autant plus de rapidité qu'elle

(1) Le lecteur se demandera, peut-être, comment on peut déterminer, au bout d'un temps donné, la quantité d'urée disparue à la même heure dans 5, 10 et 12 flacons mis à fermenter dans une même expérience. Le procédé est très simple : un essai alcalimétrique durant environ 4 minutes ; au lieu d'introduire simultanément tous les flacons dans le bain-marie chauffé à 48°-50°, on les immerge l'un après l'autre, de 5 minutes en 5 minutes, en notant sur le flacon l'heure exacte de l'immersion ; puis les dosages sont pratiqués à tour de rôle toutes les 60 minutes; sans cette précaution, il serait matériellement impossible d'effectuer ces expériences comparatives.

se trouve en présence d'une plus grande quantité d'urée, dans les limites indiquées par la série des dosages inscrits dans le tableau précédent.

Dans l'expérience III, pratiquée avec une solution d'urase âgée de 7 jours, c'était la dose 4 p. 100 d'urée qui se montrait la plus favorable au dosage de l'énergie de la diastase; dans cette expérience IV, c'est la dose de 8 p. 100 qui permet d'obtenir, dans un temps égal, la destruction maximum d'urée par le ferment soluble.

Ces résultats bizarres joints à ceux que nous avons encore à publier ne sont pas faits pour faciliter la tâche de l'expérimentateur, qui entreprendra de doser avec précision les sécrétions microphytiennes analogues aux ferments solubles, surtout si le déploiement d'énergie de ces corps est subordonné à une foule de conditions telles que le degré de dilution, la température, l'âge, la présence de substances adjuvantes, etc... Si les toxines sécrétées par les microbes pathogènes sont d'une nature analogue, on comprend aisément l'irrégularité de la marche des maladies infectieuses chez les diverses personnes qui en sont atteintes.

La température exerce sur le processus de l'hydratation par l'urase une action facile à démontrer, bien qu'elle se complique d'un appauvrissement de la solution diastasique en rapport avec le degré de chaleur auquel sont soumis les liquides mis à fermenter au contact du ferment soluble. Ultérieurement nous mesurerons l'étendue de l'action de la température sur les solutions d'urase; examinons ici l'action de la chaleur sur les hydratations en voie de se produire.

Expérience I. — Voici deux échantillons d'une diastase filtrée âgée de 14 jours. L'un est placé à 41°, l'autre à 58°, après avoir été additionnés de 2 p. 100 d'urée.

	Urée disparue par litre	
	vase placé à 41°	vase placé à 58°
Après 30 minutes	2gr 4	2gr 4
» 1 heure	5 0	6 1
» 1 h. 30	7 5	11 4

Des deux températures considérées, c'est manifestement

celle de 58° qui est la plus favorable à l'hydratation de l'urée par l'urase.

Expérience II. — Augmentons, d'un côté, cette température de 41° et portons-la à 48° et, d'un autre, ramenons à 55° la température de 58°, puis voyons les résultats que va nous fournir une solution de diastase, assez active, filtrée et vieille de 20 jours.

	Urée disparue par litre	
	vase placé à 48°	vase placé à 55°
Après 1 heure	14 gr 0	19 gr 7
» 2 heures	31 1	35 1
» 3 »	41 8	35 1

A 48° le poids de l'urée détruit en 3 heures est de 41 gr. 8. A 55°, ce poids est seulement de 35 gr. 1 ; il est vrai que la fermentation a marché plus rapidement à 55°, mais au prix de la destruction d'une portion d'énergie du ferment soluble correspondant à peu près à 16 p. 100.

Je n'insisterai pas sur le fait maintes fois constaté de la lenteur de l'hydratation de l'urée par le ferment soluble à des températures que dans notre climat on considère comme des moyennes élevées : par exemple, deux échantillons de bouillon diastasé, également chargé d'urée, placés, l'un à 50°, l'autre à 20° pendant le même temps, accusent : le premier, 15 gr. 7 d'urée détruite, le second 3 gr. 8 ; je crois préférable de rapporter quelques expériences effectuées simultanément dans des conditions identiques, à des degrés de chaleur variés.

Expérience III. — Un bouillon diastasique est réparti sous le même volume dans 5 flacons et chargé de 4 p. 100 d'urée ; ces flacons sont soumis aux températures indiquées ci-après ; au bout d'une heure on enregistre les résultats suivants :

	Urée disparue par litre au bout d'une heure
Flacon chauffé à 22°	4 gr 8
» 30°	5 7
» 38°	13 6
» 47°	19 6
» 56°	17 1

La température voisine de 50° se dessine déjà comme devant être la plus favorable à ces sortes d'hydratations; une dernière expérience effectuée avec une solution diastasique très jeune et peu concentrée va nous fixer définitivement à cet égard.

Expérience IV. — Une diastase âgée de 3 jours, filtrée, additionnée de 2 p. 100 d'urée, est répartie dans 6 vases de même forme, puis exposée à des températures constantes échelonnées entre 20° et 70°.

Les conditions expérimentales sont, comme toujours, rigoureusement identiques.

	Urée disparue par litre dans les vases maintenus à					
	20°	30°	40°	50°	60°	70°
Après 1 heure	2 gr 1	2 gr 8	3 gr 6	4 gr 1	6 gr 6	3 gr 4
» 2 heures	3 2	4 3	6 8	10 0	7 4	3 4
» 3 »	4 3	5 7	10 0	12 1	7 4	3 4

La destruction de la quantité maximum d'urée a donc lieu vers 50° ; il est vrai qu'à 60° la rapidité de la fermentation est plus grande, 6 gr. 6 au lieu de 4 gr. 1 au bout d'une heure, mais nous venons de dire à quel prix on l'obtient : elle s'accompagne toujours d'une destruction plus ou moins grande de ferment soluble.

A 70° on enregistre, seulement, la destruction de 3 gr.4 d'urée par litre ; c'est celle qui a eu lieu durant l'ascension de la température du liquide du flacon plongé dans le bain réglé à 70°. En effet, le ferment soluble de l'urée, comme je le prouverai par des expériences directes, est détruit à 70°, quand ce degré de chaleur est maintenu pendant 20 à 30 minutes.

En somme, nous retiendrons des expériences qui viennent d'être rapportées : que le ferment soluble de l'urée agit avec une énergie d'autant plus grande qu'il est en masse plus considérable, autrement dit qu'on étudie son action au début d'une fermentation ; que la température la plus favorable à cette fermentation est voisine de 50° ; que si cette température favorise à un degré moindre le début de l'hydratation que des températures supérieures situées au-delà de 50°, elle se montre, néanmoins, la plus favorable

au déploiement d'énergie du ferment soluble ; qu'enfin la quantité d'urée dissoute dans les solutions diastasiques paraissant la plus favorable au déploiement de cette même énergie, oscille, suivant l'âge des solutions, entre 40 et 80 grammes de carbamide dissous par litre.

(*A suivre.*)

REVUES ET ANALYSES[1]

L. Grimbert. — **Fermentation anaérobie produite par le** ***Bacillus orthobutylicus*** (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. VII, p. 353).

Ce bacille anaérobie a été rencontré par l'auteur dans une fermentation de tartrate de calcium amorcée avec quelques gouttes d'une macération de graines de légumineuses. Ses spores résistent pendant une minute à la température de 100°; le bacille ne se développe bien que sur des tranches de pommes de terre conservées dans le vide; il se présente sous forme de bâtonnets de 3 à 6 μ de long sur 1,5 μ de large, portant souvent deux ou trois spores très refringentes.

Il fait fermenter la glycérine, la mannite, le glucose, la saccharose, la maltose, la galactose, l'arabinose, l'amidon, la dextrine et l'inuline; il est sans action sur la tréhalose, l'érythrite, le glycol, le lactate et le tartrate de calcium, la gomme arabique.

Les produits de fermentation sont l'alcool butylique normal, avec un peu d'alcool isobutylique, l'acide butyrique normal, l'acide acétique et, dans quelques cas, l'acide formique. Pendant la fermentation il se dégage de l'acide carbonique et de l'hydrogène.

Dans ce travail, l'auteur indique les procédés qui lui ont servi à diagnostiquer et à doser ces différents produits de fermentation, et il indique des formules, très compliquées du reste, rendant compte d'une façon approchée des fermentations accomplies par le *Bacillus orthobutylicus*. Il a étudié en outre :

I. — L'influence de la durée de la fermentation :

a. Le rapport entre la substance fermentescible consommée et les produits qui résultent de sa décomposition n'est jamais constant pendant le cours d'une fermentation.

b. La quantité d'alcool butylique va en augmentant, tandis que le poids des acides butyrique et acétique va en diminuant.

c. Le rapport a/b du poids de l'acide acétique à celui de l'acide butyrique (dosés par le procédé de M. Duclaux) va en augmentant en milieu acide et en diminuant en milieu neutre.

d. La formule représentative de l'acte fermentaire est d'autant plus simple qu'il y a plus de matière consommée.

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

e. La fermentation est d'autant plus régulière que la liqueur est plus diluée.

f. L'acide formique apparaît comme produit de souffrance, susceptible, du reste, d'être détruit au cours d'une fermentation.

II. — L'influence de l'âge de la semence.

a. Au point de vue de la production d'alcool butylique, l'action de la semence croît quand elle est jeune et décroît au fur et à mesure que des spores se forment.

b. Au point de vue de la production d'acide butyrique l'action de la semence est inverse de la précédente.

c. La semence vieillit d'autant plus vite que le milieu est plus fermentescible.

III. — L'influence de l'éducation de la semence.

a. La nature du milieu de culture communique à la semence des propriétés spéciales.

b. Si l'on cultive le *B. orthobutylicus* sur inuline (milieu dans lequel il ne donne que des traces d'alcool) et qu'on le reporte sur glucose, il donnera une quantité d'alcool trois fois plus grande que la normale.

c. Réciproquement, en cultivant d'abord sur glucose, on lui donne la faculté de produire de l'alcool avec l'inuline.

IV. — L'influence de la réaction du milieu.

a. Lorsque le milieu devient acide, la quantité d'alcool fournie augmente en même temps que diminue la quantité d'acide.

b. Inversement, si on neutralise constamment avec du carbonate de chaux, l'acide augmente et l'alcool diminue.

L'auteur montre enfin que le *Bacillus orthobutylicus* sécrète une diastase qui transforme la dextrine en maltose. Il fait aussi remarquer que les substances lœvogyres, telles que le lévulose, présentent une résistance plus grande à ce bacille, et que dans la fermentation de la glycérine on observe toujours la production d'une petite quantité d'acide lactique gauche. R. C.

M. Arthus. — Recherches sur quelques substances albuminoïdes (Thèse, Faculté des sciences, Paris, 1893)

L'auteur étudie dans cette thèse les propriétés des solutions de caséine et de fibrine dans le fluorure de sodium.

Ce sel en solution à 1 p. 100 possède la propriété de dissoudre la fibrine, la caséine et ses dérivés soit à froid, soit plus rapidement à la température de 40°. La caséine et ses dérivés se dissolvent abondamment à l'ébullition dans la solution fluosodique. Les solutions de caséine dans le fluorure de sodium sont des liqueurs transparentes, légèrement opalescentes, non précipitables par l'ébullition. Elles sont précipitées par la dialyse en présence d'eau

distillée, par le gaz carbonique et quelquefois même par simple dilution. Elles sont précipitées totalement par des doses convenables d'acides étendus et par le sulfate d'ammoniaque ajouté à saturation. Le sel marin dissous dans le liquide à saturation ne précipite rien à froid, mais sépare complètement la caséine si on chauffe à l'ébullition. Ces divers caractères différencient nettement les solutions fluosodiques des caséines d'avec les solutions alcalines, terreuses, phospho-alcalines et phospho-terreuses de la même substance. Les solutions fluorées de fibrine présentent les caractères des solutions de globuline; elles sont précipitées par dialyse, par dilution, par l'acide carbonique ; elles sont coagulées par la chaleur, partiellement précipitées par le sel marin et totalement par le sulfate de magnésie. La fibrine est donc une globuline qui forme dans la famille des globulines une famille naturelle avec le fibrinogène. En effet, la fibrine et le fibrinogène sont tous deux dédoublés à 56° en deux substances, l'une coagulée à cette température, l'autre coagulable vers 64°-75°.

Quant aux caséines, d'après les caractères décrits plus haut, elles forment une classe qu'il faut opposer aux albumines-globulines coagulables par la chaleur. R. C.

Lesage et Macaigne. — **Étude bactériologique du choléra observé à l'hôpital Saint-Antoine en 1892** (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. VII, p. 18).

Pour isoler le bacille virgule à l'état de pureté, les auteurs ont employé la méthode de Koch et la méthode dite de Schöttelius. Cette dernière, qui donne, paraît-il, de meilleurs résultats, consiste à mélanger dans un cristallisoir un tiers de matières fécales (parties solides, grains riziformes) et deux tiers de bouillon ou de jus de viande légèrement alcalin. On place le tout à l'etuve à 37°. Le bacille virgule, très avide d'oxygène, donne rapidement en 6 ou 12 heures un voile superficiel formé presque exclusivement de bacilles virgules. On ensemence alors une partie minime de ce voile, par étalement, à la surface de la gélatine ou de la gélose et l'on obtient des cultures pures de bacilles de Koch.

Sur 251 malades soignés dans le service de M. le professeur Hayem, 201 ont été examinés au point de vue bactériologique. Les auteurs ont reconnu que :

1° Il a existé pendant cette épidémie plusieurs variétés microbiennes de choléra qu'il était impossible de distinguer cliniquement (choléra à *bacilles virgules*, choléra à *Bacterium coli*, choléra *polybactérien sans bacilles virgules*) ;

2° Dans la première variété, le *bacille virgule* n'a jamais existé seul ; il était uni au *Bacterium coli* ou à divers autres microbes ;

3° Un certain nombre de cas étaient semblables au choléra à *Bacterium coli ;*

4° Il n'existe aucun rapport entre le nombre des *bacilles virgules* et la gravité de la maladie ;

5° La gravité et la légèreté de la maladie sont observées dans les diverses variétés bactériologiques de choléra ;

6° Dans la forme algide, l'autopsie montre que l'envahissement bactérien se fait progressivement dès les premières heures après la mort ;

7° Au contraire, chez les malades morts pendant la période de réaction, on observe dans les divers organes la présence du *Bacterium coli* immédiatement après la mort. R. C.

E. Van Ermengem. — **Nouvelle méthode de coloration des cils des bactéries.** (Travaux du Lab. d'hyg. et de bact. de l'Université de Gand, t. I, fasc. 3).

M. le professeur van Ermengem, se préoccupant avec juste raison des insuccès trop fréquents de la méthode de Lœffler appliquée à la coloration des cils des bactéries, a cherché et trouvé un procédé de teinture aux sels d'argent qui nous semble appelé à rendre d'utiles services. Voici, en quelques mots, les divers temps de cette opération rappelant les imprégnations métalliques auxquelles les histologistes ont, de même, quelquefois recours.

D'abord les lamelles de verre couvre-objets sont dégraissées et nettoyées avec le soin que mettent les photographes, usant du collodion humide, à purger de toute impureté les glaces dont ils se servent. La préparation des bactéries séchée et passée à la flamme reçoit quelques gouttes d'un *bain fixateur* ainsi composé :

Solution à 2 p. 100 d'acide osmique	1	partie
Solution de 10 à 25 p. 100 de tannin. . . .	2	»

On laisse ce mélange agir à froid pendant une demi-heure, et, si l'on est pressé, un contact de 5 minutes vers 60° est suffisant.

Les préparations lavées à l'eau et à l'alcool avec le plus grand soin sont introduites, pendant quelques secondes, dans un *bain sensibilisateur* au nitrate d'argent à très faible titre, 0,5 à 0,25 p. 100.

Au sortir de ce bain et sans les laver, les verres minces doivent subir l'action d'un bain *réducteur* contenant :

Acide gallique.	5	parties
Tannin	3	»
Acétate de soude fondu	10	»
Eau distillée.	350	»

Au bout de quelques instants, les préparations sont immergées de nouveau dans le bain d'argent dont la composition vient d'être donnée et on arrête l'action quand ce bain commence à noircir. Il reste à laver les lamelles à grande eau, à les sécher et à les monter au baume.

Les préparations obtenues par ce procédé montrent les bactéries colorées en noir brun et leurs flagellums en noir foncé. On n'a aucune peine à concevoir que ces préparations sont, pour ainsi dire, inaltérables. M. le professeur van Ermengem, qui s'est livré à de nombreux essais, a réussi à colorer aisément par sa méthode les *Bacillus typhosus*, *coli commune* (10 variétés), *fluorescens*, *liquefaciens*, *pseudo-tuberculosus*, *enteritidis*, *subtilis*, etc. Les *Spirillum choleræ asiaticæ*, *Finkeri*, *Deneki*, *concentricum*, *undula*, *serpens*, etc. les *Micrococcus agilis*, *prodigiosus* et, enfin, dans un monde voisin, les infusoires, les algues, les monadines, etc.

Il est souhaitable, pour de nombreuses raisons dont les principales sont l'altérabilité des couleurs de l'aniline, la difficulté où on se trouve de se les procurer pures, d'avoir à sa disposition une méthode générale de coloration aux substances minérales, donnant à coup sûr de bons résultats. Le procédé de M. van Ermengem, tel qu'il est ou encore simplifié, si cela est possible, nous paraît appelé à supplanter dans beaucoup de cas les couleurs trop fugaces de la série aromatique. D^r^ M.

F. Marchal. — **Sur la production de l'ammoniaque dans le sol par les microbes** (*Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 3e série, t. XXV, n° 6, 1873).

L'auteur, qui s'est attaché à étudier plus particulièrement l'action du *Bacillus mycoïdes* sur les matières albuminoïdes les plus diverses, est arrivé à quelques conclusions intéressantes que nous sommes bien aise de porter à la connaissance des lecteurs des *Annales*.

1° L'oxydation graduelle dans le sol de l'azote des matières organiques en nitrates ou *nitrification* s'accomplit en trois phases principales :

A. L'*ammonisation* ou transformation de l'azote organique en ammoniaque ;

B. La *nitrosation* ou transformation de l'ammoniaque en nitrites ;

C. La *nitratation* ou transformation des nitrites en nitrates;

2° L'ammonisation s'accomplit, essentiellement, sous l'influence des divers microbes (bactéries, levures, moisissures) qui pullulent dans les couches supérieures du sol;

3° Parmi les bactéries du sol arable, le *Bacillus mycoïdes* ou bacille de la terre est à la fois un des plus répandus et celui dont l'action sur les matières azotées est la plus énergique;

4° Sous l'influence de ce microbe, l'oxygène se porte sur les éléments de l'albumine : le carbone est transformé en acide carbonique, le soufre en acide sulfurique ; l'hydrogène partiellement en eau, laissant l'ammoniaque comme résidu de cette oxydation ;

5° Les conditions optimales pour l'activité du microbe ammonisant sont : une température élevée voisine de 30° ; une aération complète ; une légère alcalinité du milieu ; une faible concentration des solutions albumineuses ;

6° Le *Bacillus mycoïdes*, ammonisant et aérobie en présence des matières azotées, devient dénitrifiant et anaérobie quand il existe dans le milieu des corps facilement réductibles (nitrates).

En l'absence de tout oxygène libre dans les solutions renfermant une matière organique (sucre, albumine), il réduit les nitrates en nitrites et en ammoniaque.

Ce microorganisme est donc capable de dégager de l'ammoniaque par deux processus tout à fait opposés : par oxydation dans un cas, par réduction dans l'autre.

Le travail de M. E. Marchal présente, comme on en peut juger, un très haut intérêt, mais il laisse pourtant dans l'ombre, ou plutôt sans l'expliquer, le mode d'action des microorganismes sur la molécule albuminoïde. L'on sait, depuis longtemps, que beaucoup de microphytes détruisent les substances azotées en donnant de l'ammoniaque. Comment se produit cette ammoniaque ? La molécule de l'albumine est-elle détruite d'emblée ou bien se dédouble-t-elle en substances bien déterminées, qui, à leur tour, sont appelées à donner, en se scindant, ce gaz ammoniac, terme ultime de leur fermentation ? Parmi les produits obtenus : quels sont ceux qui sont dus à l'acte de nutrition du microbe et quels sont ceux qui résultent de son action périphérique ? La question abordée par M. E. Marchal est très complexe et on est loin d'avoir mis encore, nettement, en évidence le mécanisme de la destruction de l'albumine.

D^r M.

Dr Zörkendörfer. — **Sur les bactéries qui se trouvent dans les œufs de poule, et les procédés rationnels de conservation des œufs** (*Archiv für Hygiene*, XVI, p. 369).

Bien que l'on sache depuis longtemps que quand les œufs se gâtent, chose qui n'arrive que trop fréquemment, ce fait est dû à une action microbienne, on ne s'est guère occupé jusqu'ici de déterminer avec précision les bactéries qui prennent part à ce processus. Le travail intéressant de M. *Zörkendörfer* comble utilement cette lacune et a, en outre, le mérite de suggérer un procédé pratique pour la conservation des œufs.

L'auteur, s'appuyant sur le résultat de l'examen d'un grand

nombre d'œufs gâtés, commence par préciser ce qu'il faut entendre par cela. Selon lui, on peut, parmi les œufs gâtés, distinguer deux types :

Le plus fréquent est celui de l'œuf communément dit « œuf pourri ». Au début, le blanc devient plus fluide, se trouble et devient grisâtre, puis gris vert. Le jaune prend une teinte ocre, puis noir verdâtre. Finalement, tout le contenu de l'œuf se change en une bouillie noire verdâtre, donnant l'odeur caractéristique des œufs pourris.

Dans le second type des œufs gâtés, le processus est le même au début ; mais la coloration ne passe pas au vert et reste jaune d'ocre ; le jaune et le blanc se mélangent plus tôt et se changent aussi plus tard en une bouillie épaisse. L'odeur est celle des fèces humaines. Sur 80 œufs examinés, 38 étaient pourris, 20 présentaient le second type d'altération, et 5 avaient été envahis par des moisissures.

Il était nécessaire, avant tout, de déterminer comment se produit l'infection de l'œuf. L'auteur montre que la coquille de l'œuf ne constitue pas un filtre absolu pour les microbes. Si l'on met du bouillon dans une coquille d'œuf, que l'on place celle-ci dans un récipient contenant également du bouillon, et qu'après avoir stérilisé le tout à l'autoclave on infecte le bouillon extérieur avec un microbe facile à reconnaître, tel que *Bac. prodigiosus* ou *violaceus*, on constate que celui-ci passe après 2 ou 3 jours dans le bouillon contenu dans la coquille. Il est également bien connu que des solutions colorantes traversent la coquille et colorent le blanc des œufs cuits durs. De même, en plongeant des œufs intacts dans des cultures de bouillon, il fut possible de retrouver plus tard les bacilles dans l'œuf. Ces expériences, jointes à d'autres encore, montrèrent à M. *Zörkendörfer* que les bactéries peuvent traverser la coquille de l'œuf ; ce passage a lieu généralement par places, probablement là où il existe un défaut dans la structure de la coquille. Il résulte de ceci que les œufs pourront s'infecter après leur sortie de la poule, et non seulement dans les oviductes ou le cloaque.

Les cultures faites avec ces différents œufs gâtés donnèrent un grand nombre de bactéries diverses. Généralement les œufs gâtés venant du même endroit contenaient les mêmes bactéries. On peut les diviser en deux groupes principaux :

1° Bactéries productrices d'hydrogène sulfuré ;

2° Bactéries productrices d'un pigment vert et fluorescent.

On trouve, en outre, des bactéries très diverses, mais ne revenant pas constamment ; ces dernières semblent être parvenues fortuitement dans les œufs ; elles y trouvent un terrain propice, mais n'y produisent pas d'altérations notables. L'auteur n'a, pour cela, pas jugé nécessaire de poursuivre leur étude.

Les autres ont été, au contraire, soigneusement étudiées. Les bac-

téries productrices d'hydrogène sulfuré se retrouvent dans tous les œufs pourris. Il y en a qui liquéfient la gélatine ; d'autres sont dépourvues de cette faculté et elles diffèrent aussi entre elles quant à la quantité d'hydrogène sulfuré qu'elles peuvent produire. Aussi la pourriture est-elle plus ou moins rapide selon l'espèce inoculée. Le second groupe est aussi composé d'espèces diverses et se retrouve presque constamment dans les œufs pourris et toujours dans les œufs dont l'altération rentre dans le second type décrit. Une espèce de ces bactéries fluorescentes est aussi productrice d'hydrogène sulfuré et peut, à elle seule, produire la pourriture dans les œufs auxquels on l'inocule. La fluorescence verte des cultures de ces bactéries ne paraît pas être la cause de la coloration verdâtre des œufs pourris, car, d'une part, cette coloration verdâtre se retrouve dans des œufs pourris ne contenant qu'une bactérie productrice d'hydrogène sulfuré, et, d'autre part, ces microbes fluorescents se trouvent dans les œufs du second type, qui, nous l'avons dit, restent jaunes.

M. *Zörkendörfer* décrit 10 bacilles producteurs d'hydrogène sulfuré et 5 espèces fluorescentes. Ces diverses variétés se ressemblent beaucoup et ne diffèrent guère entre elles que par le nombre et la position de leurs flagella. Un seul des bacilles producteurs d'hydrogène sulfuré paraît rentrer dans la classe des bacilles de la pomme de terre. Il donne à la première classe le nom de *Bacillus oojenes hydrosulfureus* (α à *k*), et aux bacilles fluorescents celui de *Bacillus oogenes fluorescens* (α à ε). Tous ces microorganismes sont aérobies ; aucun anaérobie ne fut trouvé dans les œufs gâtés. Excepté le *Bacillus oogenes hydrosulfureus* α, qui rentre dans la classe des bacilles de la pomme de terre et donne des spores très résistantes, tous ces microorganismes sont excessivement sensibles à l'égard des désinfectants. Seuls les *Bacillus oogenes hydrosulfureus* α et γ supportent une température supérieure à 40°. Les autres périssent après 1 à 2 jours à cette température. La plupart croissent bien à la température ordinaire et plusieurs se contentent même d'une température élevée de quelques degrés seulement au-dessus de zéro.

Cherchant quelles sont les circonstances qui favorisent l'altération des œufs, l'auteur constata que ceux-ci se gâtent plus vite dans une atmosphère humide, dans laquelle les bactéries qui se trouvent à la surface de l'œuf se développent mieux que dans un air très sec. Toutes ces bactéries croissant très bien à la température de la chambre, il ne constata pas une plus grande rapidité de l'altération à 37° qu'à la température ordinaire.

De ces faits découlent diverses règles pour la conservation des œufs. La plupart des bactéries en question ne supportant pas une température de plus de 40°, on pourrait, d'après M. *Zörkendörfer*, chauffer les œufs à 50° pendant 1 à 2 jours pour tuer les bactéries

de la surface et les tenir ensuite dans un endroit sec. Se fondant, toutefois, sur la nature exclusivement aérobie de ces microbes, l'auteur obtint les meilleurs résultats pour la conservation des œufs, en les enduisant d'un vernis. Après 2 mois, les œufs vernis, inoculés d'abord avec quelques-uns de ces microbes, étaient encore parfaitement conservés, tandis que tous ceux qui n'avaient pas été vernis se gâtèrent en peu de jours. Si nous ne nous trompons, cette méthode a déjà été employée avec succès, empiriquement ; mais M. *Zörkendörfer* a le mérite de lui avoir donné une base expérimentale et scientifique. E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Mai* 1893

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 18 du 1er Mai au 7 Mai 1893. .	3.000	340	13°,7	0mm,2	N	12km,4	127	242
N° 19 » 8 » » 14 » » . .	6.000	1,000	14 ,0	7 ,9	N.E	15 ,2	158	211
N° 20 » 15 » » 21 » » . .	13.200	1,670	17 ,2	11 ,7	S.W	19 ,9	119	180
N° 21 » 22 » » 28 » » . .	4.650	1,165	15 ,1	22 ,0	N.W	11 ,6	118	141
N° 22 » 29 » » 4 Juin » . .	8.000	830	13 ,1	4 ,6	N	11 ,0	132	91
MOYENNES ET TOTAUX	6.970	1,000	14°,6	46mm,4	N	14km,1	654	865
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Mai 1893. Bactéries = 15.500 Moisissures = 2.750 Température = 15°,0

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Mai 1893. Bactéries = 374 Moisissures = 244 Température = 14°,6

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Mai* 1893

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Mai 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	600	1.250	»	Canalis. = 3.600 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	150	3.825	»	Canalis. = 1.600 »
» de l'Avre (réservoir).	2.350	»	»	Canalis. = 3,000 »
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	34.500	58.430	16°,9	»
» de la Seine à Ivry	62.500	54.280	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	72.500	76.810	17°,0	0°,95
» de la Seine au pont de l'Alma . . .	425.000	200.960	»	»
» de la Seine à Argenteuil	3 850.000	1.384.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	43.000	75.845	»	»
» d'autres provenances.	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, rue des Marais, à Maisons-Alfort . . .	8.000	»	»	»
» Guénegaud, à Paris	5.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur.	5.800	3.280	»	»
» d'Asnières	200	2.330	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	16.500.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	87.000.000	27.400.000	»	»
» » traitée à Bondy.	120.000	119.185	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Juin* 1893

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 23 du 5 Juin au 11 Juin 1893 . .	8.160	1.150	16°,8	0mm,1	N	14km,2	159	99
N° 24 » 12 » » 18 » » . .	13.000	1.160	19,6	4,2	N	11,3	183	113
N° 25 » 19 » » 25 » » . .	11.700	1.170	20,2	30,0	Var.	11,9	131	115
N° 26 » 26 » » 2 Juillet » . .	9.840	1.160	19,6	8,0	W.	13,6	145	115
» » » » » . .	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	10.675	1.160	19°,0	42mm,3	N	12km,7	618	442
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Juin 1893. Bactéries = 3.500 Moisissures = 2.000 Température = 15°,7

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Juin 1893. Bactéries = 390 Moisissures = 240 Température = 19°,0

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Juin* 1893

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Juin 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	600	1.250	»	Canalis. = 2.000 bactér.
» de la Dhuis à Ménilmontant.	300	3.825	»	Canalis. = 1.900 »
» de l'Avre (réservoir)	2.515	»	»	Canalis. = 4.500 »
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	66.000	58.430	20°,3	»
» de la Seine à Ivry	5.000	54.280	»	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	45.000	76.810	20°,4	0°,90
» de la Seine au pont de l'Alma.	255.000	200.960	»	»
» de la Seine à Argenteuil	5.600.000	1.710.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	96.000	75.845	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits Chemin de Valenton, à Créteil	450.000	»	»	»
» Maisons-Laffitte.	24	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	3.000	3.280	»	»
» du moulin de Cage	5.000	9.105	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	40.000.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est.	31.000.000	27.405.000	»	»
» » traitée à Bondy	»	119.185	»	»

BIBLIOGRAPHIE

J. Héribaud. — **Les diatomées d'Auvergne.** (Un vol. gr. in-8, 255 p., avec 6 planches. Chez l'auteur, au Pensionnat des Frères des Ecoles chrétiennes, rue Godefroy-de-Bouillon, à Clermont-Ferrand.)

Un document très important relatif à la flore diatomique de France vient d'être publié par M. J. Héribaud. *Les Diatomées d'Auvergne*, tel est le titre de cet ouvrage, magnifiquement édité et accompagné de six planches dues aux crayons de nos habiles diatomistes: le professeur Brun, de Genève, H. et M. Péragallo. Ce livre, comme son titre permettrait de le supposer, ne contient pas seulement la description, toujours un peu sèche, des diatomées vivant dans les eaux régionales ou trouvées dans les terres fossiles du centre de la France; il est précédé d'un exposé clair et précis sur ces phéophycées, dont la beauté et la singularité ont séduit tant de botanistes.

Dans une première partie qui porte le nom d'Introduction, M. J. Héribaud définit la diatomée, passe en revue son histoire naturelle avec la sobriété de détails qui convient à un groupe d'algues dont l'histoire biologique est loin d'être terminée; on devine que ce savant observateur ne veut pas être rendu responsable de tout ce qui a été écrit sur les diatomées. M. le professeur J. Héribaud a raison, mais pourquoi n'avoir pas, alors, résisté jusqu'au bout au désir de trancher par l'affirmative quelques-uns des problèmes les plus obscurs qui entourent la physiologie de ces algues. A la page 17 de l'ouvrage qui nous occupe, je lis les phrases suivantes:

« Les corpuscules reproducteurs des Diatomées sont si ténus qu'ils ont échappé jusqu'à présent à l'examen des observateurs, même à l'aide des objectifs à immersion les plus puissants. Ces sporules restent flottants dans l'air, lequel les transporte d'une contrée à l'autre. Sur les montagnes d'Auvergne comme sur les Alpes et les Pyrénées, ces germes microscopiques peuvent rester sans périr, des semaines et des mois, sur des rochers arides exposés au soleil, ou sur la neige et la glace, exposés aux froids les plus rigoureux ; mais, dès que les conditions de la germination leur sont favorables, c'est-à-dire un peu d'humidité et quelques rayons de soleil, on les voit se multiplier avec une rapidité prodigieuse ; c'est par milliards qu'on peut observer ces diatomées sur les points où peu de jours avant il n'en existait aucune. »

Ce serait parce qu'on voit des diatomées se multiplier un peu partout qu'on admettrait le transport des espèces par des germes venus sur l'aile des vents, et ce serait parce que ces germes n'ont pu être aperçus qu'ils seraient d'une extrême petitesse. Il me semble qu'il y a dans ce raisonnement deux affirmations gratuites. Les diatomée ont, vraisemblablement, comme les graines des autres végétaux, la faculté de se réveiller aux époques de l'année qui sont favorables à leur multiplication ; ce fait entraîne-t-il nécessairement l'existence de spores infiniment petites, invisibles, dont on est porté, avant même d'en avoir démontré l'existence, à en énumérer les qualités. Cette idée de sporulation chez les diatomées est chère, je le sais, à quelques botanistes, mais je ne crois pas qu'une simple hypothèse doive être considérée comme une vérité. M. J. Héribaud me pardonnera d'autant plus volontiers cette critique qu'en lisant attentivement son livre j'ai été sur le point de n'y trouver rien à reprendre.

M. J. Héribaud adopte avec raison la classification de H.-L. Smith basée sur la forme extérieure des frustules, il considère, sans doute, avec la plupart des diatomistes, que les classifications basées sur la disposition des chromatophores sont prématurées et, j'ajoute, destinées à disparaître bientôt sans jamais avoir été d'aucune utilité.

Le nombre des espèces d'Auvergne, tant fossiles que vivantes, découvertes par M. J. Héribaud s'élève à 700 ; de ce nombre, 100 d'entre elles sont signalées pour la première fois. Enfin un genre nouveau : l'*Heribaudia*, dont M. H. Péragallo a décrit une espèce, l'*Heribaudia ternaria*, diatomée d'une forme très curieuse, a été découvert dans le dépôt fossile de Varennes (Puy-de-Dôme). Nous ne terminerons pas sans ajouter que c'est à M. J. Héribaud qu'on doit la découverte du dépôt fossile marin du Puy-du-Mur dont l'existence démontre la présence de la mer en Auvergne dans des temps reculés.

En résumé, l'ouvrage auquel nous avons consacré cette briève analyse doit être considéré comme une contribution très importante à la flore diatomique française. A ce titre, les botanistes et les micrographes de tous pays seront heureux de posséder dans leur bibliothèque un livre d'une valeur incontestable et d'une réelle utilité.

D[r] M.

G. Guérin. — **Traité pratique d'analyse chimique et de recherches toxicologiques.** (Un vol. in-8, 492 p., avec plusieurs planches en couleur et 76 figures intercalées dans le texte. G. Carré, éditeur, 3, rue Racine, 1893.)

Dans un ouvrage traitant surtout des méthodes analytiques usitées en chimie, la partie consacrée à l'analyse micrographique des eaux devait, nécessairement, occuper une place très restreinte. Malgré le faible nombre de pages réservées aux modes d'investigation des bactériologistes, M. G. Guérin a su exposer avec beaucoup de méthode et de lucidité les diverses opérations que comporte une analyse micrographique complète des eaux. Les expérimentateurs qui ont, seulement, à s'occuper d'une façon extemporanée des microphytes des eaux trouveront condensées en quelques chapitres très intructifs de nombreuses indications leur permettant d'aborder fructueusement l'étude préliminaire des microbes des liquides. Évidemment, s'ils désirent, ultérieurement, étendre et approfondir leurs recherches sur les bactéries, ils devront consulter les traités spéciaux où se trouve, longuement, exposée l'histoire des divers microorganismes. L'auteur a d'ailleurs écrit cette partie bactériologique de son livre avec l'intention modeste de venir simplement en aide aux chimistes qui sont, dans de nombreuses circonstances, appelés à toucher à l'analyse biologique des eaux. Nous estimons qu'il a parfaitement atteint le but qu'il s'était proposé.

D^r M.

PUBLICATIONS RÉCENTES

R. Koch. — Wasserfiltration und Cholera. La filtration de l'eau et le choléra (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIV, p. 393).

Dr Egisto Curti. — Studi terapeutici e batteriologici sull' Euforina. Études thérapeutiques et bactériologiques sur l'euforine (*Bolletino della reale Accademia medica di Roma*, XVIII, p. 695).

A. Stutzer et R. Burri. — Untersuchungen über die Einwirkung von Torfmull-sowohl bei alleiniger Anwendung derselben, wie auch mit Beigabe gewisser Zusätze auf die Abtödtung der Chole-

rabakterien. Recherches sur l'action de la poussière de tourbe, employée seule ou avec addition d'autres substances, pour tuer les bactéries du choléra (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XIV, p. 453).

C. Starcovici. — Bemerkungen über den durch Babes entdeckten Blutparasiten und die durch denselben hervorgebrachten Krankheiten, die seuchenhafte Hämoglobinurie des Rindes (Babes), das Texasfieber (Th. Smith) und der Carceag der Schaf (Babes). Remarques sur le parasite du sang découvert par Babès et les maladies qu'il provoque, hémoglobinurie épidémique du bœuf (Babès), fièvre du Texas (Th. Smith) et carceag du mouton (Babès) (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIV, p. 1).

Johne. — Zur Kenntniss der Morphologie der Milzbrandbacillen. Contribution à la connaissance de la morphologie de la bactéridie charbonneuse (*Deutsche Zeitschrift für Thiermedicin und vergl. Pathologie*, XIX, 244).

Dr Max Dahmen. — Ueber gewisse Berfuchtungsvorgänge bei den Vibrionen Koch, Finkler und Prior, Metschnikoff und Deneke und die epidemiologischen Konsequenzen. Sur quelques modes de fécondation chez les vibrions de Koch, Finkler et Prior, Metschnikoff et Deneke, et les conséquences épidémiologiques qui en résultent (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIV, p. 43).

Dr H. Elion. — Studien über Hefe. Études sur les levures (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIV, p. 53).

Dr H. Timpe. — Ueber die Beziehungen der Phosphate und des Caseins zur Milchsäuregährung. Des rapports des phosphates et de la caséine avec la fermentation lactique (*Archiv für Hygiene*, XVIII, p. 1).

Dr Scheurlen. — Ueber « Saprol » und « Saprolirung » der Desinfectionsmittel. Le saprol, etc. (*Archiv für Hygiene*, XVII, p. 35).

Dr A. Keiler. — Saprol, ein neues Desinfectionsmittel. Le saprol, un nouveau désinfectant (*Archiv für Hygiene*, XVIII, p. 57).

Dr A. Tedeschi. — Ueber die Uebertragung der Lepra auf Thiere. De la transmission de la lèpre aux animaux (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIV, p. 113).

Prof. Buchner. — Weitere Untersuchungen über die bakterienfeindlichen und globuliciden Wirkungen des Blutserums. Nouvelles recherches sur l'action bactéricide et globulicide du sérum de sang (*Archiv für Hygiene*, XVII, p. 112).

Prof. Buchner. — Ueber den Einfluss der Neutralsalze auf Serumalexine Enzyme, Toxalbumine, Blutkörperchen und Milzbrandsporen. De l'action des sels neutres sur les alexines du sérum, les enzymes, les toxalbumines, les globules sanguins et les spores charbonneuses (*Archiv fur Hygiene*, XVII, p. 138).

Dr Schönwerth. — Abhängigkeit der erfolgreichen Infection mit Hühnercholera von der Anzahl der den Thieren einverleibten Bacillen, sowohl bei intramusculärer Injection als bei Fürtterung. De la dépendance du succès de l'infection par le choléra des poules du nombre des bacilles inoculés à l'animal, soit par injection intramusculaire, soit par la voie stomacale (*Archiv für Hygiene*, XVII, p. 361).

D. H. Scholl. — Bakteriologische und chemische Studien über das Hühnereiweiss. Études bactériologiques et chimiques sur l'albumine de l'œuf (*Archiv für Hygiene*, XVII, p. 535).

E. Marchal. — De l'action des moisissures sur l'albumine (*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XIX, p. 65).

E. Marchal. — Sur un nouveau milieu de culture (*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XIX, p. 64.

L'Éditeur-Gérant: Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

DE L'INFLUENCE DES AGENTS PHYSICO-CHIMIQUES SUR LES ANAÉROBIES PATHOGÈNES DU SOL

PAR
Le Docteur FRANCESCO SANFELICE
(Institut d'hygiène expérimentale de l'Université royale de Rome)

Les études poursuivies ces dernières années nous ont appris que l'on trouve dans le sol, à côté des germes saprophytes, quelques anaérobies pathogènes, comme par exemple ceux de l'œdème malin et du tétanos. C'est Pasteur qui, avec Joubert et Chamberland, trouva dans le sol le microorganisme anaérobie pathogène auquel il donne le nom de vibrion septique et que Koch appela plus tard bacille de l'œdème malin. A Nicolaier revient le mérite d'avoir démontré que l'on rencontre aussi dans le sol des bacilles qui, inoculés dans le tissu sous-cutané des rats, des cobayes et des lapins, provoquent un tétanos typique mortel. On sait, en outre, que l'on peut rencontrer dans le sol de certaines localités un autre microorganisme anaérobie pathogène, le bacille du charbon symptomatique, découvert par Arloing, Cornevin et Thomas. Dans le corps des animaux morts du charbon symptomatique, les bacilles forment des spores quelques heures après la mort, et les spores en infectant le terrain peuvent devenir une cause d'infection pour d'autres animaux.

On connaît encore peu la biologie des microorganismes pathogènes du sol et nous ne savons que très peu de chose au sujet de la biologie des trois anaérobies pathogènes.

Soyka (1), le premier, a exécuté une série de recherches pour savoir comment se comporte dans le sol le bacille du charbon et il est arrivé à la conclusion que ce microorganisme forme ses spores dans la terre plus rapidement quand il y existe un certain degré d'humidité. Pasteur, mélangeant le sang d'un animal mort du charbon avec de la terre tenue à une température égale à celle de l'été, vit les bacilles charbonneux non seulement se multiplier, mais aussi produire des spores après peu de temps. Crookshank a pu constater la présence du bacille du charbon dans un sol dans lequel on avait enfoui des animaux morts du charbon. Grancher et Deschamps ont conclu de leurs observations sur le mode de se comporter du bacille typhique dans le sol, qu'il s'y maintient vivant pendant plus de 5 mois.

De Giaxa (2) étudia la façon dont se comporte le bacille du choléra dans la terre de jardin, dans l'argile et dans le sable et arriva au résultat que, quand le bacille cholérique pénètre dans un sol riche en bactéries communes, même s'il y trouve des conditions favorables à son existence et à sa reproduction, il succombe rapidement dans la lutte qui a lieu entre lui et les bactéries vulgaires; que quand le bacille du choléra pénètre en nombre relativement grand dans un terrain contenant peu de bactéries vulgaires, non seulement sa conservation, mais même sa reproduction deviennent possibles, et que la composition des divers terrains n'exerce pas une influence notable sur la conservation et la reproduction du bacille cholérique dans la terre.

Kitasato (3) a recherché dans quels mois de l'année les bacilles du charbon sont susceptibles de former des spores à diverses profondeurs du sol et a trouvé qu'à une profondeur de 1/2 à 1 mètre ils donnent des spores dans les mois de juin, juillet et août ; qu'à 1/2 mètre ils se multi-

(1) 1887. Soyka, Der Boden. *Handbuch der Hygiene von Pettenkofer und Ziemssen*, p. 199.

(2) 1889. De Giaxa, Le bacille du choléra dans le sol. *Annales de Micrographie*, II, p. 222.

(3) 1890. Kitasato, Untersuchungen über die Sporenbildung der Milzbrandbacillen in verschiedenen Bodentiefen. *Zeitschrift für Hygiene*, VIII, p. 198.

plient en juillet seulement, mais sans donner de spores et qu'à 3 mètres ils ne se développent plus du tout. Ceci est également en harmonie avec le fait, que la multiplication et la sporulation du bacille charbonneux sont en rapport avec la température. Je ne parlerai pas ici des autres travaux, parce qu'ils traitent des fonctions vitales des microorganismes pathogènes dans des conditions différentes de celles dans lesquelles vivent les anaérobies pathogènes.

Tout ce que je viens d'exposer concerne la biologie des germes pathogènes qui peuvent éventuellement être rencontrés dans le sol. Mais on n'a fait que très peu de recherches au sujet de l'action que les facteurs physiques et chimiques du sol peuvent exercer sur les microorganismes pathogènes que l'on rencontre constamment dans le sol et, plus particulièrement, sur les microbes pathogènes qui sont de nature anaérobie. Les observateurs qui se sont occupés de ces derniers d'une façon spéciale en ont, en partie, étudié la résistance à la chaleur (Kitasato, Penzo, Vincent et Vaillard, Arloing, Cornevin, Thomas, Kitt), à l'action de quelques substances chimiques habituellement employées comme désinfectants (Tizzoni et Cattani, Bossano et Steullet, Sormani), à l'action de l'acide carbonique (Fraenkel), leur résistance à la putréfaction (Bombicci), leur mode de se comporter dans les eaux (Schwartz). M'occupant depuis quelques années des anaérobies, j'ai pensé qu'il serait utile de commencer une série de recherches sur leur biologie dans le sol. Si l'on admet, avec Pettenkofer et son école, l'importance du sol dans le développement de certaines maladies, dont les germes ne s'y rencontrent qu'accidentellement, l'on doit considérer comme d'autant plus importante l'étude des germes pathogènes qui s'y trouvent constamment. Voir comment les anaérobies pathogènes et non pathogènes pénètrent dans le sol, combien de temps ils peuvent y vivre, sous forme de bacilles et sous formes de spores, comment ils se comportent à l'égard des eaux, de la chaleur, de la lumière solaire, des agents chimiques et de la constitution physique du sol, quel est leur sort dans les cadavres enterrés, rechercher s'ils se multiplient dans le sol et dans quelles conditions, si les pathogènes conservent toujours leur viru-

lence et si les non pathogènes et, spécialement, les pseudo-bacilles de l'œdème malin, du tétanos et du charbon symptomatiques peuvent acquérir la virulence dont l'absence est leur seul trait différentiel, tels sont les objets principaux qui forment le plan de ce travail. On comprend facilement, d'une part, l'importance de ces études et, d'autre part, les difficultés qu'elles présentent et le temps qu'elles exigent. Dans cette première série de recherches, qui ont demandé plusieurs mois de travail, et pour lesquelles 450 animaux d'expérience ont été employés, j'ai d'abord étudié l'action que les agents physiques, tels que la chaleur et la lumière solaire, peuvent exercer sur les anaérobies pathogènes. En second lieu, j'ai recherché comment ces microorganismes se comportent dans les eaux potables, dans celles qui contiennent des substances organiques, de nature animale ou végétale, en putréfaction, et à l'égard de la dessiccation. J'ai ensuite voulu voir si les éléments chimiques du sol, les gaz, tant ceux qui s'y trouvent toujours que ceux qui ne s'y rencontrent qu'accidentellement, ainsi que les substances chimiques dissoutes, exercent ou non une action nuisible sur eux. Pour compléter cette dernière partie, j'ai aussi étudié l'influence que divers sels du sol mêlés ensemble exercent sur les mêmes microorganismes. Dans cette première série de recherches j'ai étudié séparément l'action de ces divers agents, en exagérant leurs effets à titre d'orientation pour les études ultérieures à faire dans des conditions normales. Dans mes études, j'ai de préférence choisi les spores comme étant plus résistantes et plus fréquentes dans le sol. Je ne me suis occupé qu'exceptionnellement des bacilles en étudiant leur résistance à l'égard de la chaleur. J'exposerai les méthodes de recherches que j'ai employées dans les chapitres que cela concerne.

CHAPITRE PREMIER

Action des agents physiques sur les anaérobies pathogènes du sol.

a. — Chaleur

J'ai étudié l'action de la chaleur sur de la terre de jardin dans laquelle je savais avec certitude se trouver des spores du bacille de l'œdème malin et du bacille du tétanos ; sur des cultures pures de gélatine et d'agar riches en spores des bacilles de l'œdème malin, du tétanos et du charbon symptomatique ; sur des cultures très jeunes des mêmes bacilles ; sur des émulsions dans du bouillon de l'œdème sous-cutané des cobayes morts d'œdème malin et de charbon symptomatique, et sur de la chair desséchée et finement pulvérisée de cobayes morts à la suite d'inoculations de cultures pures d'œdème malin et de charbon symptomatique. La terre, recueillie en divers endroits des deux jardins de l'Institut d'hygiène, était passée à travers la série des tamis de Knopp en recueillant dans un récipient celle dont les grains avaient une dimension de 0,2 et 0,3 millimètre. Après avoir ajouté une quantité suffisante d'eau, on agitait bien et l'on mettait 10 centimètres cubes du mélange dans des tubes à essai ordinaires fermés avec de la ouate et préalablement stérilisés. Ceux-ci étaient alors plongés dans de l'eau à la température que l'on voulait expérimenter. Il est clair qu'au moment où les tubes étaient placés dans l'eau chaude on plongeait dans leur intérieur un thermomètre contrôlé avec celui qui indiquait la température de l'eau extérieure. J'ai suivi les mêmes règles en soumettant à l'action de la température les cultures sur gélatine et agar.

Les chairs desséchées et finement pulvérisées des animaux morts d'œdème malin et de charbon symptomatique ont été exposées à l'action de la température de la façon

suivante : on en pesait une certaine quantité (30 centigrammes), on la mettait dans un tube à essai stérilisé et on ajoutait autant d'agar qu'il en fallait pour l'inclure. On procédait ainsi pour deux raisons : 1° pour faire en sorte que la chaleur se distribuât également ; 2° pour pouvoir facilement faire les inoculations dans le tissu sous-cutané des animaux. Les particules de tissus restent, en effet, bien prises dans l'agar et peuvent facilement être inoculées avec celui-ci dans le tissu sous-cutané des animaux. Les émulsions de terre soumises à l'action de la température étaient inoculées dans le tissu sous-cutané des animaux au moyen de seringues munies d'aiguilles assez larges pour permettre le passage des grains de terre. On faisait de même pour les cultures sur gélatine et agar exposées à une température qui les rendait liquides. Comme animaux d'expériences, je me suis servi de cobayes qui sont très sensibles à toutes les infections causées par la terre.

J'ai choisi les températures de 80 degrés, 90 degrés et 100 degrés pour les *spores des anaérobies* (émulsions de terre, vieilles cultures sur gélatine et agar, chairs desséchées d'animaux morts d'œdème malin et de charbon symptomatique), sachant déjà par de précédentes recherches qu'elles sont très résistantes à l'action de la chaleur, et celles de 60 degrés et 70 degrés pour les cultures très jeunes des anaérobies, celles-ci pour étudier l'action de ces températures sur les *bacilles*.

Commençons par les résultats des inoculations pratiquées sur des cobayes avec des émulsions de terre soumises à l'action de températures de 80 degrés, 90 degrés et 100 degrés. Ainsi qu'on le voit sur le tableau suivant, les spores des anaérobies pathogènes du sol sont détruites par une température de 80 degrés après un temps variant entre 4 et 5 heures, par une température de 90 degrés après 10 à 15 minutes, par une température de 100 degrés après 3 à 5 minutes. La majeure partie des cobayes inoculés avec les émulsions de terre sont morts de tétanos ; peu sont morts d'œdème malin, et très peu seulement d'une infection due au bacille du pseudo-œdème malin.

Terre de jardin soumise à l'action de la chaleur

80° PENDANT	COBAYES MORTS DE	90° PENDANT	COBAYES MORTS DE	100° PENDANT	COBAYES MORTS DE
1 heure	Tétanos. Tétanos. Œdème malin.	10 minutes	Tétanos. Tétanos. Œdème malin.	3 minutes	Tétanos. Tétanos.
1 heure 1/4	Pseudo-œdème malin. Tétanos.				
1 heure 1/2	Tétanos. Tétanos.	15 minutes	Tétanos. Tétanos.	5 minutes	Resté en vie. Resté en vie. Resté en vie.
2 heures	Œdème malin. Tétanos.				
3 heures	Tétanos. Œdème malin.	20 minutes	Resté en vie. Resté en vie. Resté en vie.	10 minutes	Resté en vie. Resté en vie.
4 heures	Tétanos. Tétanos.				
4 heures 1/4	Resté en vie. Resté en vie.	30 minutes	Resté en vie. Resté en vie. Resté en vie.	15 minutes	Resté en vie. Resté en vie.
4 heures 1/2	Resté en vie. Resté en vie. Resté en vie.				

Ce fait de la plus grande fréquence du tétanos chez les cobayes inoculés avec des échantillons de terre chauffée semblerait donner raison à Kitasato (1), qui dit avoir réussi à isoler du pus tétanigène le bacille du tétanos en étalant le pus à la surface de tubes d'agar ou de sérum tenus 48 heures à l'étuve à 36 degrés — 37 degrés et plongés ensuite dans un bain-marie réglé à 80 degrés pendant 3/4 d'heure à 1 heure, et en en faisant ensuite des plaques de gélatine maintenues dans une atmosphère d'hydrogène. De cette manière, il n'aurait obtenu sur les plaques de gélatine que des colonies de tétanos, ce qu'il explique en disant que les autres microorganismes anaérobies qui existent dans le pus tétanigène ont des spores moins résistantes à l'action de la chaleur et qui meurent après 30 minutes quand on les soumet à une température de 80 degrés. Il est probable que ce procédé d'isolement a réussi à Kitasato dans le cas de tétanos humain ; mais je ne crois pas que les expériences répétées sur des animaux inoculés avec de la terre d'après

(1) 1889. Kitasato, Ueber den Tetanus-bacillus. *Zeitschrift für Hygiene*, XII, p. 225.

le même procédé lui eussent donné les mêmes résultats positifs. De fait, j'ai inoculé à 20 cobayes, dans le tissu sous-cutané, 20 échantillons de terre; de suite, après la mort, j'ai recueilli avec une spatule de platine le pus au point d'inoculation, je l'ai étalé sur la surface d'un tube d'agar que j'ai tenu 48 heures à 37 degrés et puis pendant 3/4 d'heure à 1 heure à 80 degrés, et je l'ai ensuite réinoculé à autant de cobayes. Comme le montre le tableau suivant, deux seulement des cobayes réinoculés le quinzième et le seizième jour sont morts de tétanos, tandis que les autres ont succombé à une infection due au bacille du pseudo-œdème ou ont survécu.

COBAYES INOCULÉS AVEC DIVERS ÉCHANTILLONS DE TERRE		COBAYES INOCULÉS AVEC DU PUS TRAITÉ PAR LA MÉTHODE DE KITASATO	
N°	CAUSE DE LA MORT	N°	CAUSE DE LA MORT
1	Bacille de l'œdème malin.	1	Petit abcès. Survécu.
2	Bacille du pseudo-œdème.	2	Bacille de l'œdème malin.
3	Bacille de l'œdème malin.	3	Bacille du pseudo-œdème.
4	Bacille du pseudo-œdème.	4	»
5	Bacille du tétanos.	5	Survécu.
6	Bacille du pseudo-œdème.	6	»
7	Bacille du tétanos.	7	»
8	Bacille de l'œdème et du pseudo-œdème.	8	Bacille de l'œdème et du pseudo-œdème.
9	Bacille du tétanos.	9	Survécu.
10	Bacille de l'œdème et du pseudo-œdème.	10	»
11	Bacille du tétanos.	11	»
12	Bacille de l'œdème et du pseudo-œdème.	12	Bacille de l'œdème et du pseudo-œdème.
13	»	13	Survécu.
14	»	14	Bacille de l'œdème malin.
15	Bacille du pseudo-œdème.	15	Bacille du tétanos.
16	Bacille de l'œdème et du pseudo-œdème.	16	»
17	Bacille du pseudo-œdème.	17	Survécu.
18	Bacille du tétanos.	18	»
19	»	19	»
20	Bacille du pseudo-œdème.	20	Bacille du pseudo-œdème.

Ces expériences, en outre qu'elles démontrent que le procédé décrit par Kitasato pour isoler le bacille du tétanos ne réussit pas toujours, prouvent aussi que, contraire-

ment à ce qu'affirme Kitasato, la température de 80 degrés peut-être supportée pendant 3/4 d'heure à 1 heure, non seulement par les germes pathogènes du sol tels que le bacille du pseudo-œdème et celui de l'œdème malin, mais aussi par les spores des autres anaérobies non pathogènes du sol et par celles des saprophytes vulgaires (bacille du foin, bacille radiciforme). J'ai, en effet, fréquemment pu, chez les cobayes inoculés avec le pus soumis à l'action de la chaleur, isoler du point d'inoculation quelques-uns des anaérobies ordinaires du sol, le bacille du foin et le bacille racidiforme.

Une chose qui surprend à première vue lorsqu'on parcourt le tableau précédent est le fait que, tandis que dans les premières inoculations les cobayes 8, 10, 12, 13, 14 et 16 sont morts par suite d'infection due aux bacilles du pseudo-œdème et de l'œdème malin, on ne voit dans la série des cobayes inoculés avec les matières recueillies au point d'inoculation des cobayes précédents, et soumis à l'action de la chaleur, que deux cobayes seulement, les nos 8 et 12, succomber à l'infection due à ces deux bacilles. Les cobayes 10 et 13 ne sont pas morts; le cobaye 14 est mort d'œdème malin, et le cobaye 16 de tétanos. Ceci s'explique facilement par le fait que de petites quantités de cultures du bacille du pseudo-œdème et de l'œdème malin n'amènent pas la mort des cobayes et par le fait, que je démontrerai plus tard avec plus de détails, que la quantité des bacilles et des spores soumis à la désinfection exerce une notable influence. Je crois que les cobayes 8 et 12 sont morts par suite d'infection due aux mêmes microorganismes qui avaient causé la mort des cobayes correspondants de la première série parce que le nombre des germes transportés du point d'inoculation sur la surface de l'agar était tellement considérable, qu'ils ont pu résister 3/4 d'heure à 1 heure à la chaleur, tandis que ceci n'a pas été le cas pour les cobayes 10 et 13. Le cobaye 14 est mort d'infection due aux seuls bacilles de l'œdème malin, parce que peu de bacilles du pseudo-œdème ont été transportés du point d'inoculation sur l'agar et que, même après s'être multipliés pendant les 48 heures passées à l'étuve, ils ne se sont pas encore trouvés en

nombre suffisant pour résister pendant 1 heure à 80 degrés. Le cobaye 16 est mort de tétanos, tandis que le cobaye correspondant de la première série d'inoculations était mort de pseudo-œdème et d'œdème malin, parce que dans cet échantillon de terre les germes du pseudo-œdème et de l'œdème étaient plus nombreux et ont fait périr l'animal en 24 heures, tandis que, du point d'inoculation de ce cobaye, peu de germes du pseudo-œdème et de l'œdème malin, mais davantage de germes du tétanos ont été transportés sur l'agar. Je pense que l'on peut expliquer de la même façon les résultats obtenus avec les autres cobayes. S'il était vrai, ainsi que l'affirme Kitasato, qu'en recueillan au point d'inoculation le pus des animaux inoculés avec de la terre, en le tenant d'abord 48 heures à l'étuve et ensuite pendant 3/4 d'heure à 1 heure à 80 degrés, et en en faisant ensuite des plaques de gélatine, on n'obtenait que des colonies tétaniques, on pourrait tout au plus expliquer comment, par le fait de la rareté des germes tétaniques, le tétanos ne s'est pas développé chez quelques cobayes; mais on ne saurait certainement pas admettre que le même fait se soit produit chez tous les cobayes inoculés par moi. De tout ce que je viens d'exposer on peut déduire que les germes pathogènes du sol y sont très fréquents, mais qu'ils n'y sont pas répartis d'une manière égale. Dans quelques échantillons de terre les uns prédominent, tandis que les autres y sont peu nombreux; dans d'autres échantillons, c'est le contraire qui a lieu. On ne peut donc rien conclure au sujet de la teneur en germes pathogènes du sol en se basant sur les résultats d'une seule inoculation; c'est ce que j'ai déjà démontré dans de précédents travaux.

Pour m'assurer encore mieux de ce que j'ai exposé plus haut, j'ai fait une autre série d'expériences que j'ai résumées dans le tableau suivant. Après avoir inoculé de la terre à un premier cobaye, je recueillais, de suite après la mort, le pus au point d'inoculation et le soumettais à l'action de la chaleur, d'après la méthode de Kitasato, et l'inoculais ensuite à un second cobaye, dont je recueillais le pus, aussi de suite après la mort, pour l'inoculer après avoir subi le même traitement, à un troisième cobaye, et ainsi de suite.

Inoculations d'échantillons de terre, de cobayes à cobayes, d'après Kitasato

SÉRIE I	MORT DE	SÉRIE II	MORT DE	SÉRIE III	MORT DE
Cobaye 1	Œdème malin.	Cobaye 1	Œdème malin.	Cobaye 1	Tétanos.
» 2	Pseudo-œdème.	» 2	Survécu.	» 2	Tétanos.
» 3	»				
» 4	Survécu.				
SÉRIE IV	**MORT DE**	**SÉRIE V**	**MORT DE**	**SÉRIE VI**	**MORT DE**
Cobaye 1	Pseudo-œdème.	Cobaye 1	Tétanos.	Cobaye 1	Œdème malin.
» 2	Survécu.	» 2	Survécu.	» 2	Œdème malin.
				» 3	Survécu.

J'ai fait ceci avec six échantillons de terres diverses, ce qui m'a donné six séries d'expériences. Les résultats obtenus ont complètement confirmé ce que j'avais observé dans la première série de mes recherches. Je n'ai eu que deux seuls cas de tétanos, et ceux-ci seulement à la suite de l'inoculation directe de la terre. La conclusion que l'on en peut tirer est qu'en usant de la méthode de Kitasato il est plus facile de perdre les germes du tétanos que de les retrouver.

Après avoir étudié l'action de la chaleur sur les spores des anaérobies pathogènes du sol, j'avais intérêt à étudier l'action des mêmes températures sur les spores des mêmes anaérobies contenues dans des cultures sur gélatine et agar. La méthode que j'ai suivie pour soumettre les cultures à l'action de la chaleur est la même que celle que j'ai décrite à l'égard des émulsions de terre. Après avoir été exposées à l'action de la chaleur, les cultures étaient inoculées à des cobayes après les avoir d'abord ensemencées sur agar et gélatine. Dans ces expériences, j'ai employé de vieilles cultures sur gélatine pour être sûr de la présence des spores. Les cultures sur agar avaient été tenues à l'étuve à 37 degrés pendant 10 à 15 jours et étaient, par conséquent, très riches en spores.

Je recommencerai par exposer les résultats obtenus avec les spores de l'œdème malin.

Le tableau suivant fait voir que ces spores, tant dans les cultures sur gélatine que dans celles sur agar, résistent 11 heures à la température de 80 degrés, 1/2 heure à celle de 90 degrés, et à celle de 100 degrés pas même une minute quand ce sont des cultures sur gélatine ; dans des cultures sur agar, au contraire, elles résistent à cette dernière température pendant 5 minutes.

Spores des bacilles de l'œdème malin soumises à l'action de la chaleur

80° PENDANT	SPORES SUR GÉLATINE	SPORES SUR AGAR	90° PENDANT	SPORES SUR GÉLATINE	SPORES SUR AGAR	100° PENDANT	SPORES SUR GÉLATINE	SPORES SUR AGAR
1 heure	+	+						
2 heures	+	+	15 minutes	+	+	1 minute	—	+
3 »	+	+				2 minutes	—	+
4 »	+	+	30 »	+	+	3 »	—	+
5 »	+	+				4 »	—	+
6 »	+	+	35 »	—	—	5 »	—	+
7 »	+	+				10 »	—	—
8 »	+	+	45 »	—	—	15 »	—	—
9 »	+	+				20 »	—	—
10 »	+	+						
11 »	+	+						
12 »	—	—						
13 »	—	—						
14 »	—	—						
15 »	—	—						

Penzo, qui a étudié le bacille de l'œdème malin a également observé que les spores de ce microorganisme sont très résistantes à l'action de la chaleur. Sans exposer la méthode qu'il a suivie dans ses expériences, il dit qu'il les a vues résister pendant 10 minutes à la vapeur de l'eau bouillante (environ 99 degrés). Les expériences exposées ci-dessus sont contraires, d'autre part, à l'observation de Penzo (1) qui a cru constater pour le bacille de l'œdème malin ce que Vincent, Vaillard et d'autres avaient remarqué au sujet du bacille tétanique, savoir : que les cultures

(1) Penzo, Beitrag zum Studium der biologischen Verhältnisse des Bacillus des malignen Œdems. *Centralblatt für Bakteriologie*, X, p. 822.

pures, du bacille inoculées aux animaux les tuent seulement par les toxines déjà formées dans les cultures et introduites dans la circulation avec celles-ci. Les cultures d'œdème malin exposées 11 heures à la température de 80 degrés, pendant 30 minutes à celle de 90 degrés et pendant 5 minutes à celle de 100 degrés, températures qui dans ces limites de temps détruisent sans aucun doute les toxines, sont capables, en effet, de tuer les animaux d'expérience. Ceci montre que les spores, indépendamment de la toxine sécrétée par les bacilles, sont à même de se développer dans l'organisme. On ne saurait non plus arguer de la présence d'autres microorganismes, attendu que les inoculations des cultures sur gélatine étaient toujours pratiquées avec des seringues stérilisées et que à l'autopsie des animaux on n'a trouvé que le bacille de l'œdème malin.

Si l'on compare les résultats obtenus avec les cultures pures d'œdème malin et soumises à l'action de la chaleur avec ceux des émulsions de terre exposées à l'action des mêmes températures, on voit que, tandis que les spores de l'œdème malin, quand elles sont dans de la terre, sont détruites par une température de 80 degrés après 4 à 5 heures, par une température de 90 degrés après 10 à 15 minutes et à la température de 100 degrés après 3 à 5 minutes, elles sont, quand elles se trouvent dans des cultures pures, détruites par la température de 80 degrés après 11 à 12 heures, en 30 à 35 minutes par la température de 90 degrés et (en cultures sur agar) en 5 à 10 minutes par une température de 100 degrés. Comment expliquer ceci? Je ne crois pas que l'on puisse donner d'autre explication que d'admettre que le nombre des spores contenues dans les cultures, tant sur gélatine que sur agar, est plus élevé.

Il faut certainement admettre que l'organisme animal est capable de surmonter l'infection quand le nombre de germes inoculés est limité et qu'il ne parvient pas à le faire quand les germes sont, au contraire, inoculés en grande quantité. Ceci expliquerait aussi la diversité que l'on observe entre les cultures d'œdème malin sur gélatine et celles sur agar exposées à la température de 100 degrés. Tandis que dans la gélatine les spores de l'œdème malin

ne résistent même pas 1 minute, elles résistent dans l'agar pendant 5 minutes.

Si l'on s'en tenait au résultat des inoculations pratiquées sur les animaux d'expérience, on pourrait dire que les spores de l'œdème malin dans la gélatine chauffée une minute à 100 degrés sont mortes, tandis qu'elles sont encore vivantes dans l'agar chauffé à 100 degrés pendant 1 à 5 minutes. Rien ne serait plus inexact, car, si on inocule les cultures d'œdème malin sur gélatine chauffée 1, 2, 4 et 5 minutes à 100 degrés sur de nouveaux tubes de gélatine avant de les inoculer aux animaux, on obtient des cultures. Ceci prouve que les spores de l'œdème malin dans la gélatine sont aussi résistantes que celles formées sur agar et qu'elles ne se sont seulement pas développées dans l'organisme animal. La raison en est très probablement le fait suivant : les spores de l'œdème malin contenues dans les cultures sur gélatine sont en moindre nombre que celles contenues dans les cultures sur agar, ce qui s'explique facilement si l'on se rappelle que le bacille de l'œdème malin se développe rapidement dans la gélatine qu'il liquéfie en peu de temps et que la liquéfaction de la gélatine marque un arrêt de développement. Or ceci n'a pas lieu sur l'agar. En outre, pour se convaincre que les cultures sur gélatine sont moins riches en spores que celles sur agar, il suffit de faire une préparation d'une culture liquéfiée de gélatine d'œdème malin et une préparation d'une culture sur agar du même âge. On verra alors combien moindre est le nombre des spores dans la culture sur gélatine.

Ce que j'ai dit plus haut au sujet des cultures de l'œdème malin chauffées à 100 degrés pourrait se dire également au sujet des émulsions de terre dans de l'eau et l'on pourrait aussi admettre que chaque fois que les échantillons de terre chauffés 5 heures à 80 degrés, 15 minutes à 90 degrés et 5 minutes à 100 degrés ne donnent pas lieu à la mort de l'animal d'expérience, ils contiennent cependant encore des spores vivantes de l'œdème malin et du tétanos. Il résulte clairement de ceci combien il importe de faire les expériences avec des cultures pures et de ne pas se borner aux seuls résultats des inoculations, mais

de transplanter les cultures soumises à l'action de la chaleur sur de la gélatine et de l'agar pour voir si réellement les spores sont mortes ou non. Les signes + et — que contient le tableau précédent ont trait aux résultats obtenus avec les inoculations. Quant aux ensemencements dans des tubes de gélatine ou d'agar, les résultats pour les températures de 80 et 90 degrés concordent avec ceux des inoculations. Les résultats obtenus par l'action d'une température de 100 degrés sur les cultures de gélatine ne concordent pas avec ceux des inoculations. Les ensemencements pratiqués dans des tubes de gélatine ou d'agar avec les cultures d'œdème malin sur gélatine soumises à une température de 100 degrés démontrent que les spores dans la gélatine sont aussi résistantes que celles qui se sont formées dans les cultures sur agar.

J'exposerai maintenant les résultats des inoculations des cultures de tétanos sur gélatine et agar soumises à l'action de la température.

Spores de bacilles tétaniques soumises à l'action de la chaleur

80° PENDANT	SPORES dans LA GÉLATINE	SPORES dans L'AGAR	90° PENDANT	SPORES dans LA GÉLATINE	SPORES dans L'AGAR	100° PENDANT	SPORES dans LA GÉLATINE	SPORES dans L'AGAR
1 minute	+	+						
2 minutes	+	+	5 minutes	—	+	5 minutes	—	+
3 »	+	+						
4 »	+	+	10 »	—	+	10 »	—	+
5 »	+	+						
10 »	—	+	15 »	—	+	15 »	—	+
30 »	—	+						
1 heure	—	+	30 »	—	+	20 »	—	—
2 heures	—	+						
3 »	—	+	1 heure	—	+	30 »	—	—
4 »	—	+						
5 »	—	+	1 » 1/2	—	+			
10 »	—	+						
15 »	—	+	2 heures	—	—			
20 »	—	+						
25 »	—	+	3 »	—	—			
30 »	—	—						
35 »	—	—						

Ainsi qu'on le voit dans le tableau ci-dessus, dans lequel les signes + et — ont trait aux résultats des inoculations des cultures à des cobayes, les spores tétanigènes résistent dans les cultures sur gélatine pendant 5 minutes à la température de 80 degrés et celles des cultures sur agar pendant 25 heures ; à la température de 90 degrés, les spores des cultures sur gélatine ne résistent même pas 1 minute, tandis que celles des cultures sur agar résistent pendant 1 1/2 heure ; à la température de 100 degrés, les premières ne résistent pas non plus 1 minute, tandis que celles des cultures sur agar résistent 15 minutes.

Kitasato a observé que les spores tétanigènes résistent 1 heure à 80 degrés et qu'elles meurent après 5 minutes à 100 degrés Tizzoni et Cattani (1) ont vu que la vapeur d'eau à 100 degrés détruit les spores tétaniques après 2 minutes et que la chaleur sèche à 150 degrés les tue en 10 minutes. D'après Vincent et Vaillard (2) les spores tétanigènes résistent pendant 6 heures à la température de 80 degrés, mais ne résistent pas 1 à 2 heures à celle de 90 degrés. Dans la vapeur d'eau bouillante elles résistent de 3 à 4 minutes ; après 8 minutes, elles sont toutes détruites. A première vue, il semble étrange que, tandis que Kitasato affirme que les spores tétaniques résistent 1 heure à la température de 80 degrés et que Vincent et Vaillard les ont vues résister à la même température pendant 6 heures, j'aie trouvé qu'elles résistent pendant 25 heures à 80 degrés.

Ce fait s'explique facilement après ce que j'ai dit plus haut au sujet des spores des bacilles de l'œdème malin. Tout dépend du nombre des spores qui ont été soumises à l'action de la chaleur.

En comparant les résultats des inoculations des cultures sur gélatine et sur agar, il paraîtrait que, tandis que les spores des bacilles du tétanos sont tuées dans les cultures de gélatine après 5 minutes à la température de 80 degrés, celles des cultures sur agar résistent, au contraire, pendant

---

(1) Tizzoni et Cattani, Ueber die Widerstandsfähigkeit des Tetanus-bacillus gegen physicalische und chemische Einwirkungen. *Centralblatt für Bakteriologie*, IX, p. 487, 1891.

(2) Vaillard et Vincent, Contribution à l'étude du tétanos. *Annales de l'Institut Pasteur*, V, p. 7.

25 heures. On pourrait attribuer à une diversité de constitution des spores ce qui, au contraire, est dû à une moindre quantité des spores contenues dans les cultures sur gélatine. En effet, les ensemencements pratiqués des cultures sur gélatine soumises à l'action de la chaleur sur tubes de gélatine et d'agar stériles démontrent que les spores tétanigènes de la gélatine sont aussi résistantes que celles des cultures sur agar. Pourquoi n'ont-elles alors pas fait mourir les animaux d'expérience? D'après Vincent, Vaillard (1) et Rouget (2), les spores tétanigènes privées de tétanotoxine ne sont pas capables de germer dans le corps des animaux et si à la suite des inoculations de terre, on obtient une infection tétanique chez le cobaye elle est due à la présence d'autres germes qui se trouvent dans la terre avec ceux du tétanos. Ces auteurs ont démontré que les cultures filtrées de tétanos chauffées pendant 10 à 15 minutes à 70-75 degrés donnent le tétanos quand elles sont inoculées à la dose de 13 centim. cubes; chauffées pendant 1 heure à 80 degrés, elles provoquent encore le tétanos lorsqu'on les inocule à la même dose. De ces expériences ils concluent que, lorsqu'on inocule à de très petits animaux des spores que l'on pense avoir débarrassées de leur tétanotoxine par un chauffage à 67-70-75 degrés et même 80 degrés, on injecte, en réalité, des spores contenant une quantité plus ou moins considérable de poison actif. Ce dernier pourra à lui seul provoquer le tétanos et la mort indépendamment de toute multiplication des germes inoculés. En outre des expériences de Sanchez Toledo (3), de Klipstein (4) et de Roncali (5), qui démontrent avec plus ou moins d'exactitude que les spores tétanigènes sont capables de se développer dans l'organisme indépendamment de la présence de la toxine, les expériences rapportées dans le tableau pré-

(1) 1892. Vaillard, Sur l'inoculation aux animaux du bacille tétanique dépourvu de toxine. *Centralblatt für Backteriologie*, XII, p. 277.

(2) 1892. Vaillard et Rouget, Contribution à l'étude du tétanos. *Annales de l'Institut Pasteur*, VI, p. 385.

(3) Sanchez, Toledo, De la virulence du microbe du tétanos débarrassé de ses toxines. *Centralblatt für Bakteriologie*, VI, p. 20).

(4) 1893. Klispstein, Ueber die Wirkung giftfreier Tetanus-Kulturen *Hygienische Rundschau*, III, p, 1.

(5) 1893. Roncali, Contributo allo studio dell infezione tetancia sperimentale *Riforma medica*, n° 165.

cédent montrent le peu de fondement de l'opinion des auteurs français précités. Comment expliquer que les cultures sur agar du bacille tétanique chauffées pendant 10-15-20-25 heures à 80 degrés, pendant 1 heure à 90 degrés et pendant 15 minutes à 100 degrés donnent le tétanos lorsqu'on sait que la tétanotoxine est alors sûrement détruite? Et notons que l'on ne saurait non plus alléguer la pénétration de germes de l'extérieur, puisque j'inoculais toujours les cultures d'agar chauffées à 90 et 100 degrés avec des seringues stérilisées. Ces expériences prouvent d'une manière péremptoire que les spores du tétanos, indépendamment de toute toxine, sont capables de se développer dans l'organisme de l'animal. J'ai déjà dit plus haut que, si les spores tétaniques contenues dans les cultures de gélatine soumises à l'action de la chaleur ne se développent pas dans l'organisme de l'animal, cela provient de ce que, se trouvant en petit nombre, l'organisme peut les détruire et non pas, ainsi que le pensent les auteurs français, de ce qu'elles seraient incapables de germer. Nous avons vu que le même fait se produit à l'égard des spores du bacille de l'œdème malin dans les cultures de gélatine soumises à l'action de la chaleur.

Que la présence des autres microbes du sol puisse favoriser le développement des spores tétanigènes, de la même façon qu'il est, d'après les observations des auteurs français, favorisé par l'acide lactique et la triméthylamine, ceci est probable. Lorsque, comme c'est le cas pour les inoculations de terre, on inocule en même temps que les spores tétaniques des spores et des bacilles d'autres espèces, il est clair que l'organisme aura à lutter contre un plus grand nombre de corps étrangers, d'où la probabilité qu'après en avoir détruit un certain nombre il en restera encore quelques-uns parmi lesquels les spores tétanigènes. L'acide lactique et la triméthylamine agiraient en diminuant la résistance de l'organisme au point d'inoculation, ou ainsi que le veulent les adeptes de la théorie de Metschnikoff en affaiblissant l'action phagocytaire des leucocytes. Les cultures tétaniques provenant de celles soumises à l'action de la chaleur, se montrent constamment virulentes quand on les inocule aux animaux.

Pour étudier la résistance à la chaleur des spores du charbon symptomatique dans les cultures sur gélatine et sur agar, j'ai employé les mêmes méthodes de recherche que pour les bacilles du tétanos et de l'œdème malin. Les signes + et — du tableau suivant se refèrent aux résultats des nouveaux ensemencements pratiqués avec les cultures soumises à l'action de la chaleur ainsi qu'aux résultats des inoculations faites sur les animaux avec les mêmes cultures, résultats qui, ainsi que le montre le tableau ont parfaitement concordé.

Spores des bacilles du charbon symptomatique soumises à l'action de la chaleur

80° PENDANT	SPORES dans LA GÉLATINE	SPORES dans L'AGAR	90° PENDANT	SPORES dans LA GÉLATINE	SPORES dans L'AGAR	100° PENDANT	SPORES dans LA GÉLATINE	SPORES dans L'AGAR
1 heure	+	+	1 minute	—	—	1 minute	—	—
2 heures	+	+	2 minutes	—	—	2 minutes	—	—
3 »	—	—	5 »	—	—	3 »	—	—
4 »	—	—	10 »	—	—	10 »	—	—
5 »	—	—	15 »	—	—	15 »	—	—

Les spores du bacille du charbon symptomatique dans les cultures sur gélatine et agar résistent pendant 2 heures à la température de 80 degrés, à celle de 90 et 100 degrés pas même une minute. Il résulte clairement de ceci que les spores de ce bacille sont passablement moins résistantes à la chaleur que celle des bacilles de l'œdème malin et du tétanos. Mais, si l'on voulait juger de la résistance à la chaleur des spores du bacille du charbon symptomatique en se tenant aux résultats obtenus par l'exposition à la chaleur de vieilles cultures de ce microorganisme sur gélatine et agar, on se tromperait certainement et de beaucoup. Ainsi que nous le verrons dans la suite, les spores des bacilles du charbon symptomatique contenues dans les chairs desséchées d'animaux morts à la suite d'inoculations de cultures pures sont beaucoup plus résistantes à la chaleur que celles contenues dans les cultures de gélatine ou d'agar.

Je ne saurais autrement expliquer cette diversité dans la résistance à la chaleur des spores contenues dans les cultures de gélatine et d'agar et celles contenues dans les chairs desséchées, qu'en admettant que ces dernières les contiennent en nombre plus considérable. Ceci est si vrai que, lorsqu'on prend la moitié, la troisième ou la quatrième partie de la quantité de viande desséchée que j'employais habituellement pour la soumettre à l'action de la chaleur on obtient des résultats très différents. Ceci est la preuve la plus évidente que le nombre des germes exerce une grande influence sur la désinfection.

Arloing, Cornevin et Thomas (1) ont observé que la résistance à la chaleur du virus desséché est beaucoup plus considérable que celle du virus frais. De fait, le virus frais chauffé à 65 degrés pendant 15 minutes tue les animaux d'expérience en 12 heures ; chauffé à la même température pendant 20 minutes, il ne les tue plus qu'après 20 heures, chauffé 30 minutes plus qu'après 30 heures, chauffé pendant 40 minutes plus qu'après 45 heures, et chauffé pendant 70 minutes également après 45 heures seulement. De cette manière, ils ont aussi démontré l'action atténuante qu'exerce la chaleur sur le virus frais. Chauffé pendant 2 heures à 70 degrés ou pendant 70 minutes à 80 degrés, ce même virus frais est entièrement détruit. A 100 degrés, il est détruit après 20 minutes. Quant au virus désséché, soumis 6 heures à la température de 85 degrés, il se montre moins actif, et après 6 heures passées aux températures de 90°-95°-100°-105°, il se montre encore moins actif, mais n'est pas encore détruit. Chauffé 6 heures à 110 degrés, il est entièrement détruit. Dans l'eau bouillante, le virus desséché conserve sa virulence pendant 1 heure, mais après 2 heures il est détruit.

Kitt (2) a observé que les chairs desséchées d'animaux morts de charbon symptomatique, tenues pendant 6 heures à la température de 100 degrés, et inoculées à la dose de 3, 5, 10 centigrammes sont inactives. Bien que les spores

(1) Arloing, Cornevin et Thomas, Le charbon symptomatique du bœuf. Paris, 1887.
(2) 1888. Kitt, Ueber Abschwächung des Rauschbrandvirus durch strömende Wasserdämpfe. *Centralblatt für Bakteriologie*, III, p. 572-605.

soumises à cette température ne tuent plus les animaux, elles ne seraient cependant pas détruites, mais simplement atténuées. Je crois que l'auteur attribue à l'atténuation ce qui est dû, au contraire au défaut de matière inoculée. Il aurait fallu rechercher si l'inoculation de plus grandes quantités de chairs desséchées soumises à la même température pendant le même temps tue ou non les animaux d'expérience.

D'après Kitasato, les spores des bacilles du charbon symptomatique chauffées pendant 1 heure à 80 degrés conservent encore leur virulence, mais à 100 degrés, dans l'étuve à vapeur, elles meurent après 5 minutes.

Tout ce que j'ai exposé fait voir que, s'il y a des différences entre les résultats obtenus par les différents auteurs relativement à la résistance à la chaleur des spores des bacilles du charbon symptomatique, la raison en est la même que celle que nous avons constatée au sujet des spores des bacilles du tétanos et de l'œdème malin et je crois que ces différences doivent être expliquées de la même manière.

Si l'on veut établir une comparaison entre la résistance dont sont douées les spores des trois anaérobies pathogènes du sol à l'égard de la chaleur, il est évident que les plus résistantes sont celles du tétanos, puis viennent celles de l'œdème malin, puis finalement celles du charbon symptomatique.

Après avoir étudié la résistance à la chaleur des spores des trois anaérobies pathogènes du sol, il était intéressant d'étudier *l'action que la chaleur exerce sur les bacilles.* A cet effet, j'ai soumis, de la même manière que dans les expériences précédentes relatives aux spores, à des températures de 60 et 70 degrés des cultures sur gélatine de ces trois microorganismes âgées de 24 à 36 heures et s'étant développées à la température de la chambre (20° à 22°). J'ai réuni dans le tableau suivant les résultats concernant tous les trois bacilles. Les signes + et — indiquent le résultat des ensemencements sur tubes de gélatine et d'agar stériles.

Bacilles de l'œdème malin, du tétanos et du charbon symptomatique soumis à l'action de la chaleur

BACILLES DE L'ŒDÈME MALIN		BACILLES DU TÉTANOS		BACILLES DU CHARBON SYMPTOMATIQUE	
60° PENDANT	70° PENDANT	60° PENDANT	70° PENDANT	60° PENDANT	70° PENDANT
30 minutes +	10 minutes +	30 minutes +	10 minutes +	15 minutes +	5 minutes +
1 heure +	30 » +	1 heure +	30 » +	30 » —	15 » —
2 heures +	1 heure —	2 heures +	1 heure —	1 heure —	30 » —
3 » —	2 heures —	3 » —	2 heures —	2 heures —	1 heure —
4 » —		4 » —		3 » —	2 heures —

Les bacilles les plus résistants sont ceux de l'œdème malin et du tétanos ; celui du charbon symptomatique est beaucoup moins résistant. En effet, le bacille de l'œdème malin meurt à la température de 60 degrés entre 2 et 3 heures et à la température de 70 degrés entre 30 minutes et une heure ; le bacille du tétanos meurt à 60 degrés entre 2 et 3 heures et à 70 degrés entre une demi-heure et une heure ; le bacille du charbon symptomatique meurt à la température de 60 degrés entre 15 et 30 minutes et à la température de 70 degrés entre 5 et 15 minutes.

Pour être encore plus certain de ces résultats, j'ai fait une autre série de recherches en soumettant à l'action des mêmes températures des bacilles de l'œdème malin et du charbon symptomatique pris directement, de suite après la mort, dans l'œdème sous-cutané de cobayes ayant succombé à l'inoculation de cultures pures de ces microorganismes. On recueillait d'après toutes les règles de l'antisepsie l'œdème sous-cutané avec une spatule de platine et on le transportait dans des tubes de bouillon stérile. Les signes + et — du tableau suivant représentent les résultats des inoculations sur les animaux et des ensemencements sur tubes d'agar stérile.

Bacilles de l'œdème malin et du charbon symptomatique pris dans l'œdème sous-cutané et soumis à l'action de la chaleur.

BACILLES DE L'ŒDÈME MALIN		BACILLES DU CHARBON SYMPTOMATIQUE	
60° PENDANT	70° PENDANT	60° PENDANT	70° PENDANT
30 minutes +	15 minutes +	10 minutes +	15 minutes —
1 heure +	30 » +	30 » —	30 » —
2 heures +	1 heure —	1 heure —	1 heure —
3 » —			

Ces résultats concordent parfaitement avec ceux notés précédemment.

Sachant que les bacilles de l'œdème malin et du charbon symptomatique forment des spores quelques heures après la mort des animaux, il m'a paru utile, à titre d'appendice à l'étude de l'action de la chaleur sur les spores et les bacilles contenus dans des substances nutritives, de rechercher quelle action les mêmes températures exercent sur les spores contenus dans les chairs desséchées d'animaux morts d'œdème malin et de charbon symptomatique.

Pour dessécher les chairs on procède de la manière suivante : de suite après la mort de l'animal, on enlève les muscles et on les place, coupés en petits morceaux, sur des plaques de verre stérilisées que l'on met à l'étuve à 37 degrés. Après 24 heures, les chairs sont déjà sèches; on les découpe alors en tout petits morceaux que l'on pulvérise finement dans un mortier.

Pour les soumettre à l'action de la chaleur, j'en prenais, ainsi que je l'ai déjà dit plus haut, 30 centigrammes, que je mettais dans un tube stérilisé en y ajoutant autant d'agar stérilisé qu'il en fallait pour recouvrir l'espace occupé par la chair désséchée. Les signes + et — du tableau suivant représentent les résultats obtenus en inoculant à des cobayes les spores contenues dans les chairs desséchées et exposées à la chaleur.

Spores de bacilles de l'œdème malin contenues dans des chairs desséchées soumises à l'action de la chaleur

80° PENDANT	SPORES dans LES CHAIRS DESSÉCHÉES	90° PENDANT	SPORES dans LES CHAIRS DESSÉCHÉES	100° PENDANT	SPORES dans LES CHAIRS DESSÉCHÉES
10 heures	+	1 heure	+	15 minutes	+
20 »	+	2 heures	—	30 »	+
25 »	—			1 heure	—

Ainsi qu'il résulte de ce tableau, les spores des bacilles de l'œdème malin contenues dans des chairs desséchées résistent 20 heures à la température de 80 degrés, 1 heure à celle de 90 degrés et 30 minutes à celle de 100 degrés. Il est clair que des expériences faites avec des quantités de poudre de viande moindres que celles que j'ai employées amèneraient des résultats différents pour la même raison qui fait que l'on a observé une différence de résistance entre les spores contenues dans la viande desséchée et celles des cultures de gélatine et d'agar.

Spores des bacilles du charbon symptomatique contenues dans des chairs desséchées et exposées à l'action de la chaleur

80° PENDANT	SPORES dans LES CHAIRS DESSÉCHÉES	90° PENDANT	SPORES dans LES CHAIRS DESSÉCHÉES	100° PENDANT	SPORES dans LES CHAIRS DESSÉCHÉES
10 heures	+	30 minutes	+	10 minutes	+
12 »	+	1 heure	—	20 minutes	—
13 »	—	2 heures	—	1 heure	—
17 »	—				

Les spores des bacilles du charbon symptomatique contenues dans les chairs desséchées sont moins résistantes à l'action de la chaleur. Ainsi que le démontre le tableau suivant, elles résistent à la température de 80 degrés pendant 12 heures, à 90 degrés pendant 30 minutes et à 100 degrés pendant 10 minutes. Comme pour les spores des bacilles de l'œdème malin, la résistance plus grande que présentent à la chaleur les spores des bacilles du charbon

symptomatique contenues dans la viande desséchée ne dépend que du plus grand nombre de spores que celle-ci contient.

Après avoir étudié la résistance des spores des anaérobies pathogènes à des températures plutôt élevées, on peut se demander si le degré de chaleur qu'acquiert la surface du sol dans les mois les plus chauds de l'année est tel qu'il puisse exercer une action stérilisante sur ces mêmes germes. En Italie, on ne fait malheureusement pas encore de ces observations méthodiques et aussi nous proposons-nous de créer bientôt une station météorologique pour pouvoir fournir une réponse directe à cette question. Pour aujourd'hui, en nous basant sur ce qui a été observé à Pola, où se trouve une station de ce genre, nous relevons que la température peut à la surface atteindre, pendant le mois de juillet, la température maximum de 60°,9.

b. — Lumière solaire

A part les importantes recherches de Raum (1) Pansini (2), Geisler (3), Santori (4), etc. au sujet de l'action de la lumière solaire sur les microorganismes pathogènes ordinaires, aérobies facultatifs ou obligés, on n'en a fait que très peu à l'égard de la résistance qu'offrent à la lumière solaire les spores des trois anaérobies pathogènes du sol.

Penzo (5), dit dans son Mémoire sur les propriétés biologiques du bacille de l'œdème malin, que les spores desséchées de ce microorganisme peuvent résister à l'action des rayons solaires pendant 12 à 20 heures. Tizzoni et Cat-

---

(1) 1889. Raum, Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse ueber den Einfluss des Lichtes auf Bakterien und auf den thierischen Organismus. *Zeitschrift für Higiene*, VI, p. 312.

(2) 1889. Pansini, Azione della luce solare sui microorganismi. *Rivista d'ygiene.*

(3) 1892. Geisler, Zur Frage ueber die Wirkung des Lichtes auf Bakterien. *Centralblatt für Bakteriologie*, XI, p. 161.

(4) 1890. Santori, L'influenza della temperatura sull'azione microbicida della luce. *Annali del Istituto d'Igiene della R. Università di Roma*, II, sér. II, p. 121.

(5) *Loc. cit.*

tani (1) ont observé que l'action prolongée de la lumière solaire non seulement tue les cultures de tétanos, mais en détruit aussi les produits. L'action désinfectante de la lumière solaire est aidée, selon ces auteurs, par l'action de l'oxygène. Vincent et Vaillard ont vu que les spores tétaniques étaient détruites après une exposition de 12 jours à la lumière solaire. Turco (2), également, a observé que les matières tétanigènes recueillies au point d'inoculation des animaux morts de tétanos et exposées longtemps à la lumière diffuse sont détruites.

Pour étudier l'action de la lumière solaire sur les spores des anaérobies pathogènes du sol, j'ai cherché à réaliser les conditions qui se rapprochent le plus des conditions naturelles et pour cela j'ai non seulement exposé à la lumière directe du soleil divers échantillons de terre de jardin, mais aussi de la terre stérilisée, à laquelle j'avais ajouté, de la manière que j'exposerai plus bas, les spores des trois anaérobies pathogènes du sol.

Pour ce qui est de la terre recueillie en divers endroits des deux jardins de l'*Institut d'Hygiène*, je l'ai passée à travers la série des tamis et j'ai réuni celle dont les grains avaient une dimension de 0,1 et 0,3 millimètre. Après m'être assuré de la présence des spores des bacilles de l'œdème malin et du tétanos, j'en pesais chaque fois un gramme que j'exposais à l'action directe du soleil.

Pour avoir de la terre avec beaucoup de spores des 3 anaérobies pathogènes je stérilisais une terre dont les grains avaient une dimension de 0,1 et 0,3 millimètres sur une plaque de zinc placée directement sur une flamme de gaz, puis, après en avoir pesé une certaine quantité, je la mélangeais dans un mortier avec la quantité nécessaire de culture sur agar de chacun des trois anaérobies pour en faire une masse compacte que je faisais sécher à l'étuve à 37 degrés après l'avoir étalée sur une plaque de verre et que je conservais ensuite dans des tubes stérilisés tenus à l'abri de la lumière. Dans chaque expérience j'en exposais un gramme à la lumière directe du soleil.

Durant l'exposition au soleil, on tenait aussi compte de la température en exposant en même temps les deux thermomètres réunis de l'actinomètre à thermomètre (thermomètre à boule noircie renfermée dans le vide, et thermomètre à boule blanche renfermée dans le vide) et un thermomètre centigrade ordinaire.

J'exposerai d'abord les résultats obtenus en inoculant la terre de jardin exposée à la lumière solaire.

---

(1) *Loc. cit.*

(2) 1892. Turco, Alcune ricerche sperimentali sulla diffusione del virus tetanico e sulla sua resistenza agli agenti esterni. *Centralblatt für Bakteriologie*. XI, p. 151.

Spores des bacilles de l'œdème malin et du tétanos contenues dans de la terre de jardin soumise à l'action de la lumière solaire

PENDANT 20 HEURES	PENDANT 40 HEURES	PENDANT 50 HEURES	PENDANT 60 HEURES	PENDANT 73 HEURES	TEMPÉRATURE MAXIMA observée durant L'EXPOSITION A LA LUMIÈRE SOLAIRE		
COBAYES morts de	COBAYES morts de	COBAYES morts de	COBAYES morts de	COBAYES morts de	THERMOM. centigrade	THERMOM. à boule noircie	THERMOM. à boule blanche
1er Œdème malin.	1er Œdème malin.	1er Œdème malin.	1er Tétanos.	1er Survécu.	45	57,2	47,2
2e Tétanos.	2e Tétanos.	2e Tétanos.	2e Tétanos.	2e »			
3e Tétanos.	3e Œdème malin.	3e Tétanos.	3e Tétanos.	3e »			
4e Tétanos.		4e Œdème malin.		4e »			

Ce tableau montre que les spores des bacilles de l'œdème malin du sol résistent pendant 50 *heures à l'action de la lumière solaire et les spores des bacilles du tétanos pendant* 60 *heures. Les cobayes inoculés avec les échantillons de terre tenus au soleil pendant* 73 *heures ont tous survécu.*

Si l'on compare les résultats des inoculations pratiquées avec la terre chauffée à 80 degrés avec ceux obtenus en inoculant la terre exposée au soleil, on voit que les anaérobies pathogènes résistent moins bien à la chaleur qu'à la lumière solaire. En tenant compte des températures maxima marquées par les thermomètres durant l'exposition des échantillons de terre au soleil, on voit clairement que l'action stérilisante doit être attribée à l'action directe de la lumière.

Les résultats des inoculations des échantillons de terre stérilisée contenant beaucoup de spores des bacilles de l'œdème malin, du tétanos et du charbon symptomatique confirment ceux obtenus avec la terre directement recueillie du sol.

Spores des bacilles de l'œdème malin, du tétanos et du charbon symptomatique soumises à l'action de la lumière solaire

PENDANT	COBAYES morts D'ŒDÈME MALIN	PENDANT	COBAYES morts de TÉTANOS	PENDANT	COBAYES morts de CHARB. SYMPTOM.	TEMPÉRATURE MAXIMA observée durant L'EXPOS. A LA LUMIÈRE SOLAIRE		
						THERMOM. centigr.	THERMOM. à boule noircie	THERMOM. à boule blanche
40 heures	+	40 heures	+	10 heures	+			
50 »	+	50 »	+	20 »	+	45	57,2	47,2
66 »	—	90 »	+	30 »	—			
		100 »	—	40 »	—			

En effet, ainsi qu'il résulte du tableau ci-dessus, les spores des bacilles de l'œdème malin résistent pendant 50 heures, celles des bacilles du tétanos pendant 90 heures et celles des bacilles du charbon symptomatique pendant 20 heures. Pour ce qui est de la terre stérilisée contenant les spores des bacilles du tétanos, on obtient les mêmes résultats en exposant au soleil les échantillons de terre contenant des spores et de la tétanotoxine qu'en y exposant ceux dans lesquels la tétanotoxine a été détruite par la chaleur. Du reste, on sait que la tétanotoxine est détruite par une exposition de 15 à 18 heures au soleil.

Intéressant est le fait que *les spores des anaérobies pathogènes du sol sont, quant à leur résistance à la lumière solaire, placés dans le même ordre que quant à leur résistance à la chaleur*. Nous avons vu que la spore la plus résistante à l'action de la chaleur est celle du bacille du tétanos; moins résistante est celle du bacille de l'œdème malin et encore moins celle du bacille du charbon symptomatique. La plus résistante à l'égard de la lumière solaire est également celle du bacille du tétanos; moins résistante est celle du bacille de l'œdème et encore moins celle du bacille du charbon symptomatique.

(*A suivre*).

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LA
PHYSIOLOGIE, LA MORPHOLOGIE ET LA PATHOLOGIE DES DIATOMÉES

Par le Dr P. MIQUEL

X. — Du noyau chez les Diatomées

Les Diatomées, dont l'enveloppe externe si admirablement sculptée a fait l'objet d'études très intéressantes de la part d'un groupe de spécialistes distingués, ne sont peut-être pas suffisamment étudiées en tant que cellules vivantes. Je crois que leur extrême fragilité a contribué pour beaucoup à retarder les recherches relatives au protoplasme, aux phéoleucites, au noyau de ces algues si singulières et si différentes des autres végétaux. Je dis que la fragilité des Diatomées est extrême, car il suffit, en effet, qu'une modification, même, légère soit introduite dans les milieux naturels ou artificiels de culture où elles prospèrent pour les voir dépérir rapidement et laisser, comme seul témoignage de leur existence passée, leurs carapaces siliceuses vides de tout protoplasme pouvant ultérieurement assurer leur réviviscence.

Telle culture qui aura été prospère en hiver ne pourra supporter la température des mois chauds de l'année et sera irrévocablement anéantie; telle autre, qui recevra avec profit les radiations lumineuses des jours voisins des équinoxes, ne supportera pas les radiations lumineuses trop intenses et trop prolongées des jours d'été et ne pourra se soutenir avec les radiations courtes et faibles des ciels brumeux de décembre, janvier et février.

Je parle surtout, présentement, des belles Diatomées marines et d'eau douce que l'observateur aime à cultiver,

car il est des Phéophycées siliceuses, des Navicules, des Nitzschies, etc., dont on voudrait souvent pouvoir se débarrasser, qui s'accommodent volontiers des milieux de culture les plus divers, de la température et des radiations les plus inconstantes, et qui sont, pour ce motif, l'ivraie qu'on n'arrive à extirper qu'à grand'peine.

La connaissance exacte et précise du contenu des valves des Diatomées est un but qu'on doit poursuivre avec persévérance, malgré la cuirasse parfois difficile à pénétrer que ces algues opposent aux réactifs chimiques ou colorants et aux investigations directes de l'observateur.

Pour être ainsi protégées contre le monde extérieur par une membrane cellulo-siliceuse inattaquable par le feu et les acides, il faut, c'est du moins ma pensée, que le contenu des Diatomées soit d'une extrême délicatesse et d'une altérabilité qui n'a pas d'analogue parmi les cellules du règne végétal. Je ne crois pas que ce soit par une bizarrerie de la nature que le protoplasme des Diatomées possède la faculté de sécréter de la silice. Cette sécrétion doit avoir un but, doit être une nécessité dont on ne saisit pas encore le véritable motif, mais qu'on peut cependant, du moins provisoirement, attribuer au besoin qu'a le protoplasme de se protéger efficacement contre les parasites de toute sorte qui en sont extrêmement friands.

Effectivement, la Diatomée est un être sans défense, elle succombe habituellement dans les luttes un peu prolongées qu'elle est appelée à soutenir contre les bactéries, les champignons, les protozoaires, les algues vertes. Toute sa force consiste à s'imposer par le nombre dans les milieux de culture qu'elle affectionne, grâce à son mode de multiplication rapide sur lequel nous avons insisté. Aussi abonde-t-elle là où les autres productions microphytiques sont clairsemées et n'ont pu prendre encore un puissant développement.

La Diatomée a quelquefois la velléité de devenir parasite ; on la voit alors s'installer sur des tiges, des feuilles mortes, etc., et, si son instinct la pousse souvent à chercher un support sur les plantes vivantes aquatiques, les algues, les mousses, etc., il ne paraît pas qu'elle puisse autrement les incommoder que par l'abus d'une hospitalité

qu'elle prend, sans trop de gêne, quand elle ne court aucun danger. Son seul moyen de défense réside dans la fuite. Si, par exemple, dans une culture artificielle, cette fuite n'est pas possible, en dehors des petits mollusques qui avalent tous les dépôts diatomifères et nettoient très proprement les vases qui les contiennent, les rhizopodes les tuent ainsi que les bactéries et les champignons quand ils peuvent s'établir solidement dans leur champ de culture. Les Chlorophycées vulgaires, les Protococcées, les Cénobiées, les Conferves, les Oscillaires, se contentent d'envahir lentement et sûrement le terrain où, d'abord, elles étaient en très faible minorité. Bref, dans cette lutte pour la vie, les Phéophycées siliceuses finissent dans la majorité des cas par céder la place aux végétaux inférieurs qui vivent concurremment avec elles. Quelques Nitzschies de forme réduite peuvent dans des conditions très favorables à leur multiplication lutter contre les algues vertes; mais ce sont là pour l'expérimentateur de trop rares exceptions; aussi devra-t-il toujours dans les cultures s'efforcer à protéger les Diatomées contre les microphytes qui peuvent leur rendre la concurrence vitale trop difficile à supporter.

Les botanistes savent qu'une cellule de Diatomées offre à considérer de l'extérieur à l'intérieur :

1° Une couche externe de substance de nature gélatineuse appelée par quelques auteurs *coléoderme;*

2° Une membrane siliceuse ou plutôt cellulo-siliceuse;

3° Une masse protoplasmique englobant des phéoleucites, des gouttes d'huile et autres corpuscules spéciaux;

4° Un noyau.

La couche extérieure des Diatomées, que plusieurs observateurs ont le tort d'appeler thalle, est formée par une substance gélatiniforme sécrétée en plus ou moins d'abondance par la cellule. Cette matière est ordinairement hyaline et plus réfringente que l'eau. Souvent on a de la peine à l'apercevoir au microscope; d'autres fois, elle est si abondante qu'elle englobe les Diatomées, les maintient immobiles en faisceaux, en étoiles ou accolées par des angles diagonalement opposés. Souvent cette substance leur forme des gaines protectrices ou des pédicules; généralement, cependant, ce coléoderme est très mince. Chez

les Diatomées vivant à l'état dissocié, il faut le secours des réactifs colorants pour le déceler. Plusieurs sortes de bactéries sont avides de cette substance gélatineuse et l'on voit très fréquemment des organismes bacillaires s'implanter par une extrémité sur les frustules vivants, s'y maintenir ordinairement perpendiculairement, les gêner dans leurs mouvements et, ce qui est plus grave, parvenir à les détruire.

Dans certaines Diatomées filamenteuses (Mélosires) ce coléoderme s'accumule souvent en grande quantité au pôle opposé des articles, qu'il sépare manifestement, en donnant une masse arrondie très réfringente. Plus tard, en vieillissant le volume de cette matière augmente encore et se met à végéter, c'est-à-dire qu'elle donne des pseudopodes en boudins arrondis, rappelant ceux qui servent de pédicule aux Gomphonèmes, aux Rhoïcosphènes, aux Achnanthes, aux Tabellaires, aux Striatelles, etc...

Un des réactifs les plus utiles pour mettre en évidence cette substance réfringente gélatineuse est le bleu de méthylène ordinaire en solution aqueuse simple ou légèrement boriquée. Cette couleur doit être ajoutée aux préparations que l'on veut traiter par ce bleu en quantité extrêmement faible et de façon que l'eau soit à peine teintée. Au bout de quelques minutes, l'eau se décolore et le bleu de méthylène se trouve fixé sur cette substance colloïde qui, d'abord nuancée en bleu violet léger, devient plus tard d'un violet noir. Je ne connais dans le règne végétal que les bactéries et leurs zooglœes qui jouissent d'une affinité aussi grande pour le bleu de méthylène.

Les stipes qui soutiennent les Gomphonèmes, les Achnanthes, etc., sont au contraire beaucoup plus difficiles à colorer par le bleu de méthylène. Est-ce parce que le coléoderme est vieux ou parce qu'il diffère du coléoderme interarticulaire dont nous avons parlé ? Je signale simplement ce fait, en attendant que cette question soit élucidée. Quel est le rôle de cette substance chez les Phéophycées siliceuses? Nous venons de dire qu'elle peut servir de soutien et de milieu protecteur, se constituer en tubes d'une grande longueur, où les Schizonèmes et les Encyonèmes peuvent se multiplier rapidement en très grand nombre;

d'autres fois, chez quelques Cyclotelles, par exemple, cette substance est sécrétée en si grande quantité que les cultures de ces algues deviennent visqueuses comme du blanc d'œuf; dans ce dernier cas, on constate simplement une faculté productive de gélatine analogue à celle que présentent plusieurs algues, entre autres bon nombre de Palmellacées, dont la structure dissociée agrégée est invoquée comme un caractère botanique.

J'ai également suivi avec beaucoup d'intérêt la sécrétion du coléoderme épais et abondant chez quelques Phéophycées siliceuses marines, qui a pour résultat de faire de quelques Diatomées des végétaux à structure dissociée agrégée ; caractère qu'on pourra ultérieurement invoquer dans une classification botanique de ces algues.

Les choses se passent ainsi : un individu unique commence par s'entourer d'une capsule de gélatine, puis, après s'être dédoublé dans l'intérieur de cette capsule, chaque diatomée s'enrobe à son tour d'une nouvelle couche de gélatine ; nouvelles déduplications et nouveaux enrobages et ainsi de suite. Au bout d'un certain temps, ces diatomées se trouvent contenues dans des gangues mamelonnées agrégées, dont la couche gélatineuse de la diatomée mère forme la membrane la plus extérieure ; il existe des diatomées filles qui se trouvent alors protégées par 10 et 20 couches coléodermiques.

En laissant de côté les hypersécrétions qui viennent d'être citées, je crois cependant que le coléoderme n'est pas sans utilité chez les Diatomacées ; il recouvre les valves d'une première couche protectrice contre laquelle les parasites doivent d'abord s'attaquer. Rien ne s'oppose à ce qu'on considère également cette première couche membraneuse comme une sorte de filtre pour les sucs que les échanges vitaux dirigent dans l'intérieur de la cellule par les ouvertures qui font communiquer l'intérieur des Diatomées avec le milieu ambiant.

J'ai bien peu de choses à dire sur les valves cellulo-siliceuses des algues qui nous occupent, car l'enveloppe des Diatomées a fait l'objet d'études longues et délicates de la part de savants très distingués dans les mémoires, les monographies et les ouvrages desquels la structure des

valves de tous les genres que nous connaissons aujourd'hui est aussi bien décrite que soigneusement et artistement figurée. Je préfère m'étendre plus longuement sur le protoplasme et le noyau de ces algues, principalement sur le noyau en l'absence duquel la vie des cellules animales et végétales ne paraît pas possible. On nous dit bien que les Cyanophycées ne possèdent pas cette partie essentielle de la cellule ; s'il faut admettre son absence chez les Bactériacées, les Nostocacées, les Oscillaires, etc., parce qu'on n'a pu encore l'y découvrir, il serait cependant prématuré de transformer en vérité l'expression d'un simple résultat négatif, ces sortes de résultats indiquant souvent l'insuffisance de nos moyens d'investigation. J'incline à croire, au contraire, que toute cellule a un centre vital qui préside à sa multiplication, à la transmission de ses caractères héréditaires, et que ce centre n'est pas toujours facile à découvrir au sein du protoplasme qu'il régit.

Le protoplasme remplit habituellement, à l'état normal, la totalité de l'espace circonscrit par les valves des Diatomées, à la paroi intérieure desquelles il ne paraît pas adhérer intimement. Vient-on à administrer à la Diatomée un léger toxique ou à la placer dans des conditions impropres à sa vie, à l'action d'un agent physique capable de lui nuire, à l'action d'une dessiccation très passagère ? Le protoplasme des frustules se rétracte, en entraînant avec lui les phéoleucites, qui parfois se déforment, les globules huileux, etc., pour se concentrer en une masse à contours arrondis, souvent sphérique chez les Biddulphes, les Coscinodisques, les Cyclotelles, etc., Chez les espèces de forme allongée, la rétractation s'effectue vers une des parois des valves, ou encore, la masse du protoplasme se concentre vers le centre de la cellule où se trouve toujours placé le noyau. Ce mouvement amiboïde peut être suivi sous le microscope ; pour le voir s'accomplir avec lenteur et régularité, on emploiera des antiseptiques faibles en solution très étendue. L'emploi d'une substance trop fortement toxique donne lieu à des rétractions brusques, irrégulières, quand la mort de la cellule n'est pas instantanée. Si le toxique est éminemment puissant, la cellule est fixée, et l'on ne peut observer aucun mouvement du protoplasme.

Dans l'étude biologique des Diatomées, je ne suis pas partisan des procédés violents de destruction s'ils, peuvent quelquefois rendre service, ils sont loin de valoir toujours ceux qui permettent à ces algues de vivre pendant un temps plus ou moins long au contact des réactifs, de les absorber lentement et de se colorer sous leur influence en des lieux d'élection.

Il existe encore quelques faits démontrant que le protoplasme des phéophycées siliceuses n'adhère pas d'une façon appréciable aux faces internes des valves. Un des plus curieux s'observe au moment où les microfrustules se transforment spontanément en auxospores ou mégafrustules, qui rétablissent la grandeur de l'espèce. A ce moment, les valves s'écartent et le protoplasme s'échappe de la cellule en possédant une consistance molle et sans élasticité, qui, plus tard, s'entoure d'une membrane inextensible siliceuse comme les enveloppes des autres Diatomées. On dira, peut-être, que dans ce cas le protoplasme fortement organisé est déjà entouré d'une membrane cellulosique dès le début de sa croissance et avant même d'avoir quitté les valves des microfrustules. Je veux bien admettre cette supposition. Mais ce n'est pas le seul moment où le protoplasme émigre à l'état vivant des enveloppes qui le contiennent en temps normal. Dans certaines conditions, que je n'ose encore considérer comme pathologiques, qu'on peut créer en faisant vivre des Diatomées dans des milieux anormaux, le protoplasme diffluе lentement dans le liquide des macérations, abandonne sa carapace, prend la forme de sphères ou de plateaux discoïdes, parfaitement arrondis, pourvus d'un noyau, des phéoleucites, enfin de tous les éléments qui constituent les cellules des Diatomées. On peut alors constater que le protoplasme massif a presque l'indice de réfraction de l'eau ; pour le rendre bien visible, il faut le colorer au bleu de méthylène au contact duquel il contracte une couleur violette, tandis que les phéoleucites ne sont pas visiblement touchés. Je reviendrai ultérieurement sur ce phénomène d'émigration du contenu de la cellule des Diatomées en dehors des valves siliceuses. J'ai pu observer ce fait singulier chez beaucoup de Diatomées de forme allongée, circulaire ou globuleuse. Je veux retenir de ce phé-

nomène un seul enseignement : la cohésion du protoplasme en dehors de la cellule, bien qu'il ne possède pas, d'ailleurs, pas plus que les plasmodes des Myxomycètes, une enveloppe discernable au microscope.

Devenu accessible aux Protozoaires, le protoplasme des Diatomées se défend difficilement contre leur voracité. Quelques infusoires munis d'une ouverture buccale spacieuse se bourrent gloutonnement de cette substance et avalent noyaux, chromatophores, globules huileux, etc., avec une avidité qui indique que ces représentants inférieurs du règne animal trouvent dans ce protoplasme un aliment exquis d'une assimilation facile. Certains Coleps s'en remplissent au point de devenir à peu près sphériques et en arrivent à contracter la couleur jaune de l'endochrome des Diatomées.

Pour d'autres infusoires, ce protoplasme est plus difficilement attaquable. Je rapporterai à cet égard une observation curieuse à deux titres : d'abord, parce qu'elle nous donne quelques indications sur la nature du suc que le protoplasme des Phéophycées siliceuses abandonne en se contractant, et ensuite parce qu'elle nous montre que le protoplasme vivant est loin d'être aussi perméable aux parasites que son écoulement *post mortem* en dehors des valves pourrait le faire supposer.

En examinant une préparation confectionnée avec une culture pure de *Biddulphia Baileyi*, l'une des plus grosses Diatomées vivant actuellement dans nos mers, j'aperçus un individu dont la masse protoplasmique se rétractait vivement vers une des faces valvaires et, alors, dans le suc clair et limpide abandonné par le protoplasme du Biddulphe, je distinguai un petit infusoire long, en forme de lanière, flexible, très agile, qui me parut voisin du genre *Trachelius*. Cet infusoire évoluait, en tout sens, avec beaucoup de rapidité, en se butant tantôt contre les valves, tantôt contre le protoplasme nu qui se retirait prudemment, visiblement gêné par un hôte aussi turbulent. Cet infusoire, dont il ne put être aperçu un second spécimen dans toute la préparation, était évidemment prisonnier dans cette Diatomée; grâce à son extrême minceur, il avait pu se faufiler dans l'intérieur du frustule par une ouverture due pro-

bablement à un traumatisme accidentel resté invisible pour l'observateur et non moins perceptible pour l'Holotriche qui resta prisonnier durant les quatre heures pendant lesquelles la préparation fut tenue en observation. Du reste, le Protozoaire fit bientôt contre mauvaise fortune bon cœur et, l'instinct de la conservation l'emportant sur les ennuis de cette séquestration accidentelle, il se divisa et se donna un compagnon de captivité. Au bout de trois heures le nombre des Trachéliens prisonniers dans les valves du Biddulphe était de quatre. Je regrette de n'avoir pu suivre plus longtemps cette curieuse observation de parasitisme ; tout ce que j'en puis déduire, c'est que le protoplasme des Diatomées ne se laisse pas entamer aisément, qu'il a une consistance assez forte pour résister aux chocs multipliés et incessants de plusieurs infusoires, et que le suc laissé par le protoplasme est de l'eau à peu près pure dans laquelle les Protozoaires peuvent vivre et se multiplier sans difficulté.

Chez beaucoup de Diatomées, le noyau est très difficile à distinguer, soit parce qu'il est masqué par des phéoleucites au travers desquels il est impossible de l'apercevoir, soit parce que l'indice de réfraction de sa substance est très voisin du protoplasme habituellement réfringent et incolore qui l'entoure. Les quelques dessins que j'ai pu voir de ces noyaux m'ont paru beaucoup plus théoriques que conformes à la réalité des faits ; à moins d'avoir à sa disposition de belles et grandes Diatomées, des Pinnulaires, des Coscinodisques, on ne voit habituellement rien ; même avec le *Coscinodiscus concinnus* que nous allons étudier, le noyau est très difficile à percevoir, au milieu de l'enchevêtrement des bandes de protoplasma, qui partent de son voisinage et vont en divergeant à la périphérie de la cellule. Strasbürger, dont la compétence en histologie botanique ne saurait être contestée, reconnaît que l'examen du noyau des Diatomées offre les plus grandes difficultés. Je suis absolument de son avis et je déclare que le noyau reste invisible à l'observateur dans la plupart des Diatomées vivantes et pleines de santé. Il est encore beaucoup plus difficile de l'apercevoir chez les Diatomées mortes. L'observation du noyau est donc chose très délicate ; dans beaucoup de cas j'ai dû renoncer à le mettre entièrement en évidence par

la raison que sa membrane ne prend pas aisément les couleurs, du moins pendant la période active de la vie du frustule des Diatomées. Mais cette membrane nucléaire ne s'oppose pas à la diffusion des couleurs pour lesquelles elle se montre indifférente, elle les laisse parfaitement passer, et la chromatine qui se trouve plongée dans la matière nucléaire les absorbe, les fixe avec facilité et se colore intensément. Ce n'est donc pas la conformation du noyau qu'il est toujours aisé de mettre en évidence, mais la position qu'il occupe dans la masse protoplasmique des Diatomées. La coloration de la chromatine effectuée, on connaît la place et l'orientation du noyau dans la cellule, on peut apprécier s'il est simple, double ou multiple, cela par un procédé à la portée de tous les observateurs qui ont sous la main des Diatomées possédant encore une étincelle de vie.

Après plusieurs essais, effectués avec les diverses matières colorantes vulgaires, j'ai arrêté mon choix sur le bleu de méthylène ordinaire, et le bleu de méthylène non toxique qui paraît de prime abord se conduire vis-à-vis des Diatomées comme le bleu ordinaire. Pour dissoudre ce bleu, j'emploie, suivant les cas, tantôt de l'eau pure, tantôt de l'eau chargée d'acide borique, et parfois de l'eau chargée d'un demi-centimètre cube pour 100 d'ammoniaque. Le bleu de méthylène acide offre une action moins prompte que le bleu en solution neutre, et le bleu en solution ammoniacale agit plus rapidement que le bleu neutre. Le bleu de méthylène ammoniacal ne se conserve pas longtemps, il vire au violet avec le temps. On l'emploiera donc récemment préparé quand on désirera faire pénétrer promptement la matière colorante dans les noyaux perdus au milieu d'un protoplasme volumineux. Le bleu de méthylène dissous dans l'eau distillée ordinaire suffit dans la grande majorité des cas. En toute circonstance, la conduite de l'opération de la coloration de la chromatine des noyaux des Diatomées est assez délicate et demande à être réglée avec les plus grands ménagements :

Dans un verre de montre, on place une portion de la culture des Diatomées vivantes et l'on ajoute avec une pipette, goutte à goutte, une solution de bleu de méthylène

au millième, de façon que l'eau contenue dans le verre de montre soit à peine teintée. Au moyen d'une préparation effectuée immédiatement, on juge si la quantité de bleu ajoutée n'a pas trop fortement touché les frustules ; s'ils étaient devenus très bleus, l'opération serait à recommencer; si, au contraire, les valves ne portaient aucune trace de coloration, il faudrait ajouter quelques gouttes de solution colorée. On comprend qu'il est très malaisé d'indiquer d'une façon précise la quantité de bleu qu'il faut ajouter : elle doit varier suivant les espèces sur lesquelles on pratique ces essais et avec la plus ou moins grande abondance de la substance organique colorable en bleu contenue dans les cultures. Quoi qu'il en soit, une opération est toujours défectueuse quand les valves sont devenues trop rapidement bleues ou violettes ; elle est réussie si les frustules laissent filtrer à travers leurs espaces clairs et hyalins une lumière à peine teintée en bleu clair. Dans ce cas, les Diatomées nagent dans un liquide à peu de chose près incolore et on doit se tenir prêt à observer la chromatine du noyau.

La partie centrale des Diatomées, presque toujours occupée par une masse de protoplasme beaucoup plus réfringent que celui qui englobe les phéoleucites, acquiert une nuance bleue à peine perceptible, puis lentement et progressivement, dans l'intérieur de cette masse, apparaît une tache bleue qui fonce de plus en plus, mais reste toujours *bleue*, tandis que quelques corpuscules d'une autre nature, rigoureusement sphériques, contenus dans les Diatomées, deviennent promptement bleu violet très foncé, presque noirs. D'ailleurs la tache formée par la chromatine du noyau n'est pas nettement limitée, elle est plus foncée au centre qu'à la périphérie ; de plus, elle est comme estompée sur les bords; à ma connaissance, il n'existe pas dans le protoplasme des Diatomées une tache pareillement colorée avec laquelle on puisse la confondre. Qui a vu une fois dans sa vie une semblable tache ne sera pas exposé à la méconnaître et la distinguera toujours aisément des corpuscules voisins ayant pu se colorer sous l'action du bleu de méthylène.

La teinte de la chromatine fonce de plus en plus, tout

d'abord, assez vite, puis, tandis que les autres parties de la cellule se colorent plus fortement, la nuance de la matière intérieure du noyau s'atténue et peut finir par se fondre avec celle du protoplasme beaucoup plus lent à se colorer, mais dont la teinte, d'abord faible, devient progressivement plus intense.

En un mot, par le procédé que j'indique, la matière du noyau devient visible, parce qu'elle possède la propriété de se colorer bien avant le protoplasme périnucléaire et le protoplasme massif de la cellule.

Il s'en faut de beaucoup que la mise en évidence de la chromatine du noyau des algues qui nous occupent soit toujours aussi délicate. J'ai considéré dans les lignes qui précèdent le cas où l'observateur a affaire aux Pleurosigmes ou à certaines Nitzschies d'une extrême altérabilité; mais avec les Coscinodisques, les Biddulphes, les Navicules, les Nitzschies vulgaires, etc., la coloration bien visible du noyau est la règle, quand on ne tue pas brutalement la Diatomée par un excès de colorant, ou quand on ne la teint pas d'emblée, de façon à rendre son intérieur insondable. Remarquons que cette coloration doit toujours se faire sur l'espèce vivante et que c'est grâce aux phénomènes osmotiques, nécessités par la vie de l'algue, que le bleu est porté rapidement dans l'intérieur du noyau.

J'ai pu déterminer la position de cet organe chez les espèces de Diatomées les plus petites, sur celles dont la taille ne dépasse pas le diamètre d'un globule rouge de sang humain; mais comme la tache bleue qu'on obtient dans ce cas est environ 30 fois plus petite que la longueur du frustule, on peut juger de son extrême ténuité; on doit alors user de grossissements énormes pour rendre cette tache visible, qui se montre souvent comme l'image voilée d'une cellule unique de microcoques ayant quelques dixièmes de μ.

Ainsi donc j'en arrive à cette conclusion : que les éléments principaux du noyau de toute Diatomée, tant d'eau douce que d'eau salée, peuvent être rendus visibles au moyen d'une solution aqueuse de bleu de méthylène, quand, évidemment, un corps opaque ne vient pas gêner matériellement leur examen. La disposition de l'endochrome, sou-

vent gênante pour cette étude, est cependant assez variée chez la même espèce pour laisser dans de nombreux spécimens le champ libre à l'observation du nucléus.

J'ai fréquemment cherché à fixer le protoplasme des Diatomées afin de pouvoir colorer d'une façon permanente les divers éléments qui constituent leurs cellules, et, puisque l'occasion s'en présente, je vais donner la composition du liquide qui m'a fourni les meilleurs résultats. Je commencerai par déconseiller l'usage de l'acide osmique en solution à divers titres, qui a le tort grave de colorer ces algues beaucoup trop fortement; je préfère m'adresser aux sels de mercure en solution aqueuse très concentrée.

Pour celui qui a pu étudier la rapidité avec laquelle se rétractent le protoplasme et les phéoleucites des Diatomées vivantes, très sensibles aux réactifs, comme les Pleurosigmes et beaucoup d'autres espèces, il est clair qu'il faut agir brusquement et puissamment sur la cellule, c'est-à-dire la tuer et la fixer en quelques fractions de seconde. Les Protozoaires se trouvant nus dans les infusions, la fixation est chose relativement aisée; mais quand le réactif doit, au contraire, pénétrer dans l'intérieur d'une cellule aussi bien cuirassée que l'est une Diatomée, il faut agir avec des toxiques d'une puissance excessive. Aussi les substances qui fixent bien les infusoires ne fixent pas souvent convenablement le protoplasme des Phéophycées siliceuses.

Après avoir étudié les sels de mercure les plus solubles dans l'eau, entre autres l'hydrofluosilicate, pour de nombreuses raisons que je n'ai pas à énumérer ici, j'ai donné la préférence aux solutions concentrées de sublimé corrosif. Mais, comme ce sel est peu soluble dans l'eau pure, environ à la dose de 5 parties pour 100, j'ai augmenté le pouvoir dissolvant de l'eau vis-à-vis de ce bichlorure métallique, par l'addition du sel marin.

Voici la formule du fixateur dont je me sers :

Sublimé corrosif.	65 grammes.
Sel marin	15 —
Eau pour compléter à. . . .	100 centimètres cubes.

C'est à ce liquide lourd, d'une densité égale à 1,62

comparable à celle du trichlorure de phosphore ou du tétrachlorure de carbone, chargé de 65 pour 100 de bichlorure de mercure, qu'on peut s'adresser pour coaguler instantanément le protoplasme et les éléments divers qui constituent la cellule des Diatomacées.

Dans un tube à essai petit et étroit, on introduit un demi-centimètre cube d'une macération chargée de Diatomées vivantes, puis avec une pipette graduée on ajoute brusquement un demi-centimètre cube de la solution concentrée de sublimé qui vient d'être indiquée. Le mélange se fait très vite, on l'aide au moyen d'une courte agitation; puis, sans tarder, on remplit complètement le tube d'eau distillée ; enfin, on lave le dépôt à plusieurs reprises avec de l'eau pure. Aucun trouble ne se forme jamais, et tous les organismes vivants : Champignons, Chlorophycées, Phéophycées, Infusoires, etc., sont fixés dans la forme qu'ils possédaient au moment de l'addition de ce puissant toxique. Le sublimé, du moins momentanément, ne change en rien la couleur des Diatomées qui restent jaunes pendant plusieurs heures ; plus tard elles verdissent ; en outre, leurs phéoleucites, tout en restant en position dans le sein du protoplasme, finissent par se chiffonner et dégénérer en granulations, ce qui démontre que le mot fixation n'est pas toujours synonyme de parfaite conservation. La conservation dans toute leur intégrité des éléments composant la cellule des Diatomées avec leur aspect normal est un problème peu facile à résoudre, mais dont on ne doit pas cependant désespérer de trouver la solution.

Le protoplasme des Diatomées fixé au préalable au sublimé se colore infiniment plus vite que celui que contiennent ces algues à l'état de vie. Le bleu qui nous avait été jusqu'ici si précieux, ne paraît plus avoir de lieu d'élection; la masse bleuit, devient d'un violet noir intense dans toutes ses parties, et le bénéfice d'une semblable opération est nul, car le noyau n'est plus rendu visible ou reste très peu discernable. C'est pour ce motif que je déclare préférable de pratiquer la coloration bleue sur la cellule vivante. Il faut laisser aux bactériologistes ce procédé qui consiste à griller les bactéries avant de les colorer, et cette technique de teinturerie qui nous fait voir tous

PLANCHE VI

Figure 1

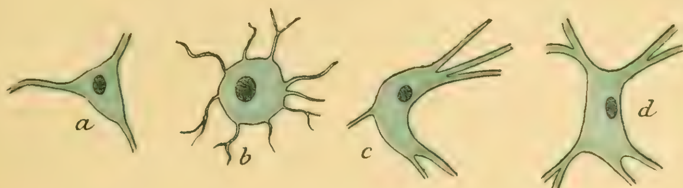


Figure 2

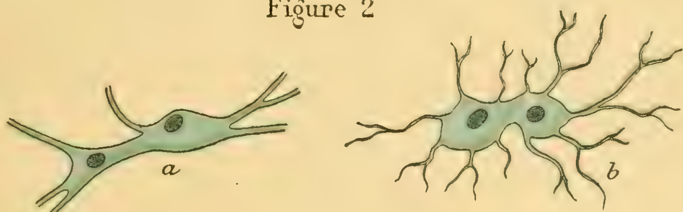


Figure 3.

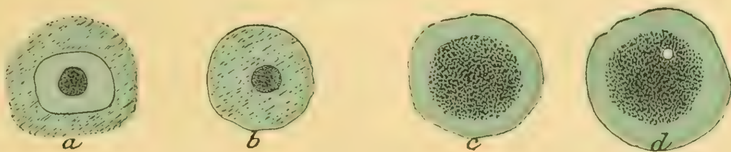


Fig. 4

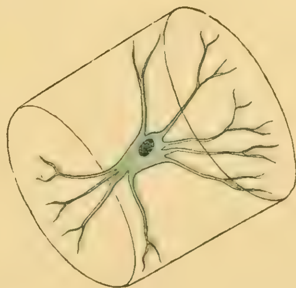
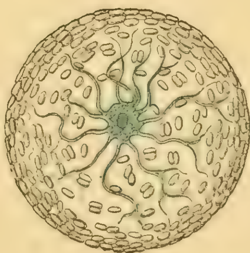


Fig. 5



E. Oberlin lith.

les jours de si étranges choses, après les trois sacramentels passages de la lamelle mince dans la flamme d'un bec ou d'une lampe à alcool. En histologie végétale et animale, on doit mettre en œuvre des méthodes plus en rapport avec l'extrême délicatesse des éléments qu'on désire colorer, voir et étudier ; et, lorsqu'il s'agit des Diatomées, je crois même qu'il faut éviter de les fixer comme cela réussit bien avec les infusoires et d'autres cellules vivantes.

J'aborde maintenant l'étude du noyau chez une grande espèce de Phéophycée siliceuse, dans l'intérieur de laquelle on peut suivre sans trop de peine les déplacements du nucléus, repérer sa position et observer les éléments qui l'entourent.

Il y a quelques mois, M. Tempère, qui a fréquemment l'obligeance de me procurer des matériaux de cultures, me fit parvenir une récolte de *Coscinodiscus concinnus* ; malheureusement le dépôt qui contenait cette belle espèce était en pleine putréfaction. Il ne me fut pas possible d'apercevoir dans le sein de ce dépôt un Coscinodisque normalement endochromé, tous étaient vides et paraissaient morts. Je lavai à diverses reprises ce dépôt avec de l'eau de mer naturelle stérilisée, de façon à enlever le plus possible les substances putrides qu'il contenait ; puis, au mois d'août de cette année, je l'abandonnai dans un bocal plein d'eau de mer à la température de mon laboratoire et dans un lieu où les radiations lumineuses étaient très douces. A la mi-septembre, le *Coscinodiscus concinnus* se développa magnifiquement, donna une culture jaune doré, qui resta prospère pendant un mois environ et s'évanouit ensuite très rapidement. Une belle espèce marine, le *Pleurosigma hippocampus*, lui succéda ; aujourd'hui ce pleurosigme a tout envahi, et je ne trouve plus dans le dépôt du bocal que des frustules inféconds du gros Coscinodisque.

Le *Coscinodiscus concinnus* est une Diatomée facile à étudier : d'abord parce qu'elle est très volumineuse (le diamètre de ses valves circulaires mesure en moyenne 190 μ, et ses valves sont tout à fait transparentes à l'état normal) ; ensuite, parce que les éléments qui constituent son protoplasme ne sont pas compliqués.

PLANCHE VII

Fig. 1



Fig. 2

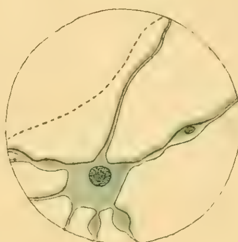


Fig. 3

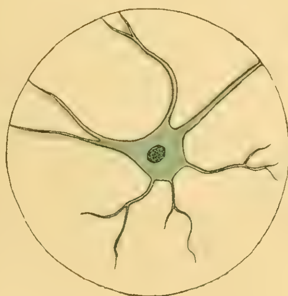


Fig. 4

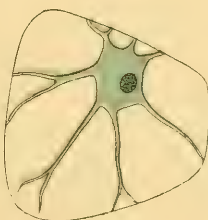


Fig. 5

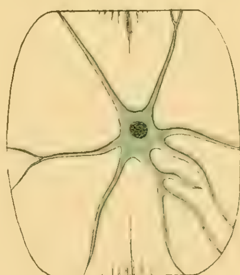


Fig. 6



E. Oberlin lith.

Grossissement = 200 Diam.

Les cellules de 1/5 de millimètre sont assez rares en histologie végétale ; aussi doit-on considérer comme une bonne fortune d'en pouvoir examiner de vivantes, surtout quand leur enveloppe est de la plus grande translucidité. Chez le Coscinodisque dont je parle, le dessin en réseau qui sculpte les valves, n'est visible que lorsque l'espèce est traitée à l'acide et montée dans des milieux convenablement réfringents. D'autre part, le protoplasme de cette variété est absolument transparent, il ne contient ni globules huileux ni autres éléments cellulaires pouvant s'ajouter aux chromoleucites pour gêner la vision, du moins, il ne m'a pas été possible d'en apercevoir. Les chromoleucites du Coscinodisque considéré sont elliptiques, jaunes, de 5 μ sur 9 μ (planche VI, *fig.* 5) ; on les voit aisément se multiplier par scissiparité dans l'intérieur du frustule, où ils se montrent souvent en très faible quantité. Ces corpuscules sont, parfois, rangés symétriquement en cercles autour du noyau, généralement ils se trouvent à une assez grande distance de lui, ce qui permet à l'observateur de voir, quelquefois sans difficulté, le noyau, sorte de corps ellipsoïdal, presque sphérique, à peine plus réfringent que le protoplasme *spécial* qui le baigne de toute part. Je n'ai pas représenté le contour de ce noyau dans les figures qui accompagnent ce travail, parce qu'il est d'ordinaire difficile à voir après la coloration de la chromatine par le bleu de méthylène ; ce noyau possède environ une quinzaine de μ de diamètre moyen, tandis que l'espace occupé par la chromatine colorée en bleu mesure à peu près 10 à 12 μ. Le noyau hyalin du *Coscinodiscus concinnus* est englobé dans un protoplasma spécial, comme je viens de le dire, qui se distingue du protoplasme massif de la cellule par une plus forte réfringence et son peu d'affinité pour le bleu de méthylène. La masse centrale de ce protoplasme offre un diamètre moyen de 30 μ ; il possède, en outre, de nombreuses expansions qui vont en divergent à différents points de la cellule, ce qui fait ressembler le noyau et ses dépendances immédiates à une gigantesque araignée ou à une cellule cérébrale (planche VI, *fig.* 1, *a*, *b*, *c*, *d* ; *fig.* 4 et 5 et planche VII).

Quand on ajoute à l'eau de mer une trace de bleu ammo-

PLANCHE VIII

Fig. 1



Fig. 2

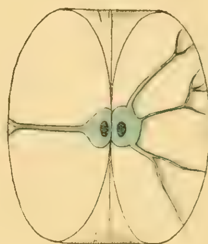


Fig. 3

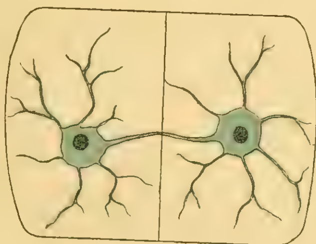


Fig. 4

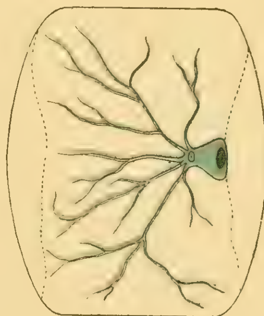


Fig. 5

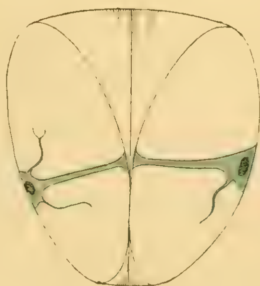
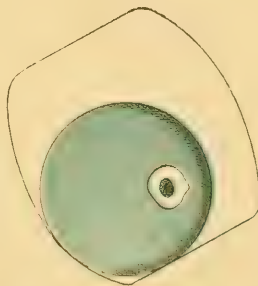


Fig. 6



E. Oberlin lith.

Grossissement = 200 Diam.

niacal, le Coscinodisque ne paraît pas d'abord sensiblement touché; quelques minutes plus tard, le protoplasme périnucléaire se teint en bleu léger, ce qui augmente la visibilité de ses ramifications; bientôt la chromatine forme une tache bleu clair, qui fonce très rapidement, alors que le protoplasme réfringent qui entoure le noyau est encore très peu coloré. Au bout d'une heure, le protoplasme massif qui remplit la cellule est coloré en violet, et les éléments essentiels de la Diatomée se différencient ainsi qu'il suit :

La chromatine du noyau est d'un bleu méthylène franc et intense.

Le protoplasme périnucléaire est à peu près incolore.

Le protoplasme cellulaire massif est violet foncé (nuance qui est peut-être due à l'alcalinité du protoplasme).

Les chromoleucites sont à peine verdâtres.

Si l'on examine avec de forts grossissements la partie colorée du nucléus (planche VI, *fig.* 3, *c*, *d*, gross. = 1,000 diamètres), on la voit formée d'éléments filiformes, comme brisés, ayant l'aspect d'amas bacillaires; rarement on y distingue une vacuole. Quand le protoplasme du Coscinodisque est en état de rétraction, le nucléus apparaît encore entouré d'une zone claire de protoplasme périnucléaire, la plupart des expansions se sont retirées et concentrées autour du noyau (planche VI, *fig.* 3, *a* et planche VIII, *fig.* 6). Si le protoplasme est comme desséché et la Diatomée peut-être morte, ce nucléus apparaît quelquefois, mais sans la zone translucide faiblement colorée (planche VI, *fig.* 3, *b*). Enfin, quand la Diatomée est morte depuis longtemps, le noyau n'est plus décelable par les réactifs, tandis que les phéoleucites plus ou moins déformés restent souvent apparents.

Dans la figure 4 de la planche VI, je donne en perspective la position du noyau et du protoplasme qui en dépend. La figure 5 de la même planche montre suivant la face valvaire un noyau avec ses nombreuses ramifications protoplasmiques, la forme et la disposition de ses Phéoleucites ellipsoïdes (gross. = 200 diamètres).

Dans la planche VII, où tous les dessins sont rapportés à un grossissement de 200 diamètres environ, la figure 1 montre un noyau maintenu au centre du Coscinodisque

par cinq bandelettes robustes de protoplasme, se dirigeant sur la face connective. La figure 3 présente un mode de suspension très fréquent et quelques branches ramifiées qui se perdent dans la masse du protoplasma de la cellule. La figure 4 offre l'exemple d'un noyau entouré d'une masse étendue de protoplasme périnucléaire, se ramifiant en un grand nombre de branches. La figure 2 est beaucoup plus curieuse à étudier : sous l'influence de la concentration de l'eau de mer, le protoplasme massif du Coscinodisque s'est rétracté suivant la ligne ponctuée indiquée dans le dessin ; le noyau est devenu excentrique, les expansions du protoplasme périnucléaire se sont rétractées et offrent des renflements dont on peut suivre à l'œil les modifications incessantes. Les figures 4, 5 montrent deux *Coscinodiscus concinnus* vus par leur face connective ; on y voit le noyau situé à peu près sur la ligne qui joint les centres des valves convexes, et les dispositions très communes du protoplasme périnucléaire avec ses ramifications.

Toute division du *Coscinodiscus concinnus* en particulier et de toute Diatomée en général est précédée et non concomitante de la division du noyau. Dans l'espèce qui nous occupe, cette division est difficile à suivre, par suite de l'abondance des nombreuses ramifications du protoplasme périnucléaire, et de la sensibilité extrême de cette espèce, qui sous la moindre influence extérieure cesse sinon de vivre, du moins de se multiplier. Je ne puis donc décider aujourd'hui s'il y a dans ce cas simplement fragmentation du noyau par étranglement, ou division par kariokynèse. Chez certaines Nitzschies, j'ai pu voir le noyau primitif unique se partager en deux aires colorées sous forme d'éventail, et offrir la forme en fuseau qui me porterait à croire que les phénomènes de la kariokynèse sont possibles chez les Diatomées. Une étude plus soutenue dans cette voie permettra de résoudre certainement cette question. Quoi qu'il en soit, les noyaux doubles sont aperçus très fréquemment chez les Diatomées vivantes. La planche VI, *fig.* 2, montre en *a* et *b* deux couples de noyaux observés dans le *Coscinodiscus concinnus*.

Tant qu'il n'y a qu'un noyau dans une cellule de Dia-

tomée, on ne peut observer d'autre phénomène précurseur d'une déduplication que l'accroissement en volume du protoplasme. Cet accroissement est parfois contemporain de la division du nucléus, mais la déduplication proprement dite de la cellule ne commence que lorsque les noyaux sont très distincts et parfaitement séparés l'un de l'autre; c'est alors, seulement, qu'ils prennent chacun à charge de confectionner individuellement et séparément la valve intérieure qui fera d'une seule Diatomée deux individus à peu près semblables.

Alors la masse protoplasmique massive se partage en deux parties à peu près égales qui se rétractent lentement vers les valves extérieures. Une membrane d'apparence cellulosique, encore molle, flexible et contractile, entoure le protoplasme du côté qui doit devenir la future valve. Peu à peu, sous l'action directrice du noyau, les valves se confectionnent et se parachèvent ; en ce moment encore le protoplasme se meut dans le suc de la cellule ; mais, quand ce travail est terminé, les valves qui dans le Coscinodisque bombé qui nous occupe conservent un point de contact tangentiel, se silicifient rapidement, et alors seulement le désemboîtement peut se produire.

La planche VIII montre dans la figure 3 un Coscinodisque à double noyau, mais dont le protoplasme n'est pas encore visiblement divisé; un cordon robuste de protoplasme périnucléaire joint les deux noyaux. La figure 2 nous montre l'opération de la division à peu près terminée ; les deux noyaux sont très voisins l'un de l'autre, mais cette disposition n'a rien de particulier, les deux noyaux peuvent être très éloignés des cloisons médianes, et l'achèvement des deux cellules se poursuivre sans difficulté. J'ajouterai même que, sur 100 *Coscinodiscus concinnus* en voie de dédoublement, 80 à 90 fois les noyaux se portent vers la face externe des valves (voir planche VIII, *fig.* 1 et *fig.* 5). La figure 5 offre la disposition la plus commune du noyau dans les coscinodisques en voie de terminer leur division. Une bandelette robuste de protoplasme joint habituellement le centre des valves opposées ; plus rarement ce noyau envoie des ramifications nombreuses vers les valves internes, ainsi que la figure 1 en donne un exemple.

J'ajouterai, même, que les noyaux ont une prédilection marquée pour occuper chez le Coscinodisque considéré les régions voisines des faces externes ; ils s'en éloignent au moment de la division pour se porter au centre de la cellule, ou encore quand on provoque une rétraction au moyen d'un réactif chimique. La figure 4 nous offre un exemple de ces rétractions dans lesquelles le noyau ne quitte la paroi intérieure de la valve que parce que le protoplasme massif se contracte vers le centre de la cellule.

Pour nous résumer, nous dirons que la déduplication de n'importe quelle cellule de Diatomées est précédée de la division du noyau. Quand les deux noyaux résultant de cette sissiparisation sont très évidents et indépendants l'un de l'autre, le protoplasme se partage en deux parties à peu près égales, en emportant avec lui la moitié des grandes bandes d'endochrome s'il en existe, ou, si la Diatomée comporte seulement des phéoleucites peu volumineux, une partie d'entre eux. Sous l'action simultanée des deux noyaux, le côté du protoplasme qui doit former la face de la valve interne s'organise et on distingue alors deux membranes qui se rétractent fortement quant la valve est accidentée; c'est en se rétractant plus ou moins, suivant les accidents, que doivent présenter les faces des Diatomées, que ces rétractions parfois immédiatement symétriques, le plus souvent non symétriques, arrivent à constituer ces valves souvent très mouvementées dont le *Biddulphia aurita* nous donne un curieux exemple.

J'ai suivi bien souvent la formation des faces valvaires chez cette dernière Diatomée, qu'on peut cultiver très aisément. Si l'on conçoit sans difficulté la formation d'une cloison dans un filament de confervacées, comment se pratique la division chez une algue à valves échancrées, montueuses, hérissée de piquants, qui, une fois divisée, donne deux surfaces ayant à peine deux points de contact? La chose est très facile à comprendre : le boudin protoplasmique une fois formé chez le *Biddulphia aurita*, on voit en son milieu, souvent sur un grand nombre de points à la fois, le protoplasme se creuser, se contracter, quelquefois symétriquement, à gauche et à droite, en tout cas se sculpter progressivement comme s'il était façonné par la main d'un

artiste ; si la valve qui doit naître comporte des poils et des piquants, le protoplasme laisse des filaments de sa propre substance, qui deviennent ultérieurement, en se silicifiant, des épines fines et déliées. Les auteurs de ces dessins admirables de finesse, de ces cornes courbes ou arrondies, de ces golfes plus ou moins anfractueux qu'on voit naître sous les yeux, ce sont les noyaux qui les fabriquent avec les moyens d'action qu'ils ont à leur disposition. Pour une cause ou pour une autre, quelquefois un des deux noyaux est en retard sur le second, le travail ne marche pas alors d'une façon synchronique, l'aspect des cellules en voie de division n'offre pas une symétrie parfaite, mais après que l'affinage des valves est complet, et parfois au fur et à mesure que ce travail s'opère, les noyaux dirigent une sécrétion rapide de silice sur les faces molles qui sont ainsi transformées en valves rigides.

Toutes les Diatomées que j'ai étudiées se dédoublent de cette manière et jamais il n'y a formation d'emblée d'une cloison siliceuse. Ce n'est pas une seule cellule qui a charge de conduire à bonne fin la division. Toute relation cesse entre les deux noyaux dès que le protoplasme se partage ; c'est-à-dire que la cellule mère en s'isolant de la cellule fille, laisse à cette dernière le soin de constituer un nouvel individu. La plupart des cellules du règne végétal paraissent agir de même, sauf peut-être les cellules de certains champignons ascosporés qui se multiplient par bourgeonnement. Le fait sur lequel je désire attirer l'attention est la fabrication au sein du suc cellulaire, par les noyaux devenus deux unités morphologiques et physiologiques, des valves internes des Diatomées. Si dans quelques espèces les valves internes rectilignes semblent soudées, ce contact n'est pourtant pas intime, il est simplement apparent ; la formation des valves étant toujours postérieure à la division du protoplasme.

J'ai dit qu'on pouvait avec le bleu de méthylène rendre apparente la chromatine du noyau chez toutes les Diatomées ; je rappelle que ce noyau est toujours plongé dans un protoplasme périnucléaire spécial, dont il reste à étudier le rôle et les propriétés ; que ce protoplasme est toujours placé en masse volumineuse au centre de figure des Dia-

tomées ; qu'habituellement il forme un pont allant du milieu d'une valve à l'autre ; que c'est dans ce protoplasme qu'on observe les mouvements de translation du noyau, sa division ou sa fragmentation. C'est à raison de cette position centrale, hors de laquelle il ne se meut jamais en temps normal, que se produit le cloisonnement du protoplasme, conformément à cette loi botanique qui a établi que les cloisons naissent perpendiculairement à la ligne qui joint les noyaux. Mais pour les Diatomées cette seconde loi, qui veut que la cloison se fasse dans le sens de la plus grande longueur du végétal, est souvent méconnue, car on sait que, la plupart du temps, le cloisonnement a lieu parallèlement à la plus grande longueur de la cellule.

J'aurai encore à parler de la ramification du protoplasme périnucléaire, à la surface interne des valves, ou du moins, dans cette partie du protoplasme massif de la cellule qui s'y trouve appliquée, mais je réserve pour un autre paragraphe cette étude, qui me semble présenter le plus haut intérêt pour la physiologie des Diatomées.

REVUES ET ANALYSES (1)

Dr Tullio Rossi Doria. — **Contribution à l'étiologie des diarrhées estivales des enfants.** (*Annali dell'Istituto d'igiene sperimentale della R. Università di Roma.*)

La plupart des auteurs qui se sont occupés de l'étiologie des diarrhées estivales des enfants se sont bornés à isoler des déjections les bactéries qui s'y trouvaient et à vérifier leur action pathogène. L'auteur a étendu ses recherches, en outre de l'examen bactériologique des déjections, aux lésions constatées à l'autopsie. Il a, par conséquent, mis de côté les cas moins graves aboutissant à une guérison, ce qui lui a permis d'établir avec plus de certitude le rôle étiologique des microorganismes trouvés.

Après avoir constaté que dans les fèces normales de l'enfant on trouve constamment le *Bacterium coli commune* et le *Bacillus lactis aerogenes*, M. Doria remarqua, dans les 20 cas étudiés par lui, que les fèces des enfants atteints de diarrhée estivale, dont il donne une soigneuse description clinique, ne contenaient, pour ainsi dire, plus qu'un seul microorganisme en nombre immense savoir le *Bacterium coli commune*.

A l'auptosie, ce dernier se retrouva également dans tous les organes et dans les lésions de l'intestin. L'auteur en déduit que c'est à ce microorganisme qu'est due cette affection.

Voici, du reste, les conclusions de son travail :

1° Le *Bacterium coli commune* peut produire, chez les enfants, spécialement en été, de graves affections intestinales ;

2° Ces affections peuvent rester localisées dans l'intestin ou se répandre dans l'organisme de manière à provoquer une infection générale.

3° Quand l'infection se généralise, la disposition des microorganismes dans les organes est caractérisée par la formation de petits groupes, comme dans le typhus.

4° L'infection produite par le bacille typhique peut ressembler à celle du *Bacterium coli commune*, tant par les phénomènes cliniques suivant l'invasion de l'organisme que par les altérations anatomico-pathologiques.

---

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

5° Les microorganismes producteurs de ces diverses infections se distinguent nettement l'un de l'autre, et offrent tous les caractères différentiels reconnus aujourd'hui comme les plus sûrs pour distinguer les deux formes;

6° L'infection provoquée, par le *Bacterium coli commune* peut, comme le typhus, prendre un caractère franchement épidémique, et, dans ce cas, il est fort probable que ce sont les fèces qui, contenant à l'état, pour ainsi dire, de pureté et en grande quantité le *Bactérium coli* virulent, contribuent plus que toute autre chose à la diffusion de la maladie. E. F

F. Baumann. — **Contribution à l'étude de la maturation du fromage** (*Diss. inaug. Königsberg*, 1893).

Les conclusions de la dissertation inaugurale de M. F. Baumann sont les suivantes :

1° Les bactéries contenues dans la présure n'ont pas pour la fermentation et la maturation du fromage l'importance qu'on leur attribue ;

2° Des dissolutions de présure à réaction neutre ou légèrement acide peuvent être purgées de germes par une stérilisation fractionnée, mais perdent par cela presque la moitié de leur action coagulante ;

3° D'après mes expériences, il n'est pas possible de stériliser le lait tel qu'il se vend sur le marché, sans le rendre inapte à la fabrication du fromage ;

4° La formation des trous (yeux) dans les fromages cuits n'est la plupart du temps provoquée que par un bacille, auquel je donne le nom de *Bacillus diatrypeticus casei*. Selon les cas, ce bacille provoque la formation de trous réguliers ou anormaux. La formation anormale des trous n'est donc pas due à des levures ou bactéries, qui ne seraient douées que du pouvoir de provoquer une fermentation nuisible ;

5° Le gaz qui produit les trous du fromage consiste surtout en acide carbonique (63 p. 100) et en hydrogène. Il contient, en outre, de petites quantités d'autres gaz, mais pas d'hydrures de carbone ;

6° Dans la fermentation provoquée dans les fromages par ce bacille, il se produit aussi de l'alcool ;

7° Si les fromages dits de l'Emmenthal, fabriqués en Suisse, sont meilleurs que ceux fabriqués ailleurs, cela tient moins à l'arome des fourrages alpestres ou à la teneur en graisse supérieure du lait suisse, qu'au fait que les proportions des bactéries du lait y sont moins sujettes à des variations, et que le mode de fabrication usité en Suisse y est adapté mieux qu'ailleurs au mélange des bactéries dans le lait.

Tout en reconnaissant volontiers le zèle apporté par l'auteur dans ses expériences et la somme de travail que celles-ci représentent, certaines de ses conclusions nous semblent, cependant, appeler quelques critiques.

D'abord, nous reprocherions à M. Baumann d'avoir étudié un peu superficiellement les travaux relatifs à ces questions. S'il l'avait fait, il n'aurait pas donné comme conclusions nouvelles des faits connus depuis longtemps.

En premier lieu, je ne sais pourquoi M. Baumann croit que l'on attribue une telle importance aux bactéries de la présure dans l'œuvre de la maturation. J'ai moi-même montré (*Landw. Jahrbuch der Schweiz*, 1891) qu'en employant les tablettes de Hansen on ajoute tout au plus 800 bactéries par litre au lait, ce qui est absolument insignifiant, étant donné la richesse microbienne habituelle du lait. Si M. Baumann se donne donc la peine de prouver que pour une bactérie contenue dans la présure il y en a, au moins, 2 000 dans le lait, le fait n'est pas nouveau.

Dans une seconde série d'expériences, M. Baumann montre que l'on peut purger de germes la présure, mais que cela lui ôte une partie de son action. Il a employé pour cela la stérilisation fractionnée en soumettant 7 jours durant la présure à une température de 58°,5 pendant 4 1/2 heures chaque jour. S'il avait lu le travail précité, il y aurait vu que le même résultat peut être atteint bien plus commodément en filtrant la présure à la bougie Chamberland.

M. Baumann s'est donné ensuite beaucoup de peine pour fabriquer des fromages avec des laits chauffés à diverses températures, en vue d'étudier les phénomènes de maturation sur des fromages à peu près stériles. Il aurait pu s'éviter cette peine, en grande partie, puisque M. Schaffer a montré, il y a plusieurs années déjà, que le lait cuit ne se coagule plus sous l'action de la présure, à moins de le saturer d'acide carbonique, et que j'ai moi-même montré que l'on peut facilement employer du lait pasteurisé pendant 20 minutes à 69°, ce qui le rend suffisamment stérile dans la majorité des cas.

Quant à la quatrième conclusion de l'auteur, nous ne pouvons absolument pas y souscrire. Ce n'est pas au moment où l'on constate que la plupart des fermentations ne sont pas l'œuvre d'un seul microbe, mais que de nombreuses espèces sont douées de ces propriétés, comme c'est le cas pour les fermentations alcooliques, lactiques, de l'urée, etc., que l'on peut affirmer qu'un seul bacille est la cause des trous du fromage. Le rôle en partie double qu'il jouerait — trous normaux dans un cas, trous anormaux dans l'autre, — ce qui en ferait un bacille tout à la fois utile et nuisible, parait bien peu probable aussi. S'il en était ainsi, il faudrait plaindre les fromagers qui ne sauraient jamais s'ils doivent fermer ou ouvrir

leur porte à cet hôte. Si nous comprenons bien la pensée de M. Baumann, l'apparition des trous normaux ou anormaux dépendrait de la quantité des bacilles contenus dans le lait, et de la manière de fabriquer les fromages. Dans tous les cas, même s'il en était ainsi, le *Bacillus diatrypeticus casei* ne serait bien certainement pas le seul à produire ces effets, vu que Duclaux, Adametz et d'autres ont montré qu'il existe toute une série de microbes susceptibles de produire des dégagements gazeux dans les fromages. Pour ma part, j'en ai déjà décrit quatre espèces. Dans tous les cas, le bacille de M. Baumann paraît être le cousin germain de l'*Actinobacter polymorphus* de M. Duclaux, s'il ne lui est même pas identique, et rien ne prouve qu'il mérite une place à part au milieu de tous les microbes producteurs de gaz trouvés dans les fromages. J'ai eu souvent l'occasion de faire des analyses bactériologiques, à plusieurs phases de leur maturation, de fromages munis de trous normaux; nombre de fois j'y ai constaté l'absence des microbes qui paraissent être la cause du boursouflement proprement dit; en sorte que j'incline à croire que la formation des trous normaux et parfaitement ronds d'un fromage à point est plutôt l'œuvre de bactéries produisant peu de gaz à la fois, mais d'une façon lente et régulière. D'ailleurs, les trous et les boursouflements provoqués par les microbes parents de celui de M. Baumann produisent tout leur effet dans les trois à quatre jours qui suivent la fabrication du fromage, c'est ce qui est aussi arrivé aux fromages fabriqués par M. Baumann, tandis que les vrais yeux du fromage ne font leur apparition que quand le fromage est mis à mûrir dans la cave chaude, en général vers la troisième semaine. Cependant, je le concède volontiers l'idée émise par M. Baumann mérite d'être prise en considération et de faire l'objet d'études ultérieures.

Quant à dire que la réussite des fromages suisses tiendrait à ce que le nombre des bactéries dans le lait serait soumis en Suisse à moins de fluctuations qu'ailleurs, c'est là une assertion qui semble tant soit peu hasardée et que rien ne vient justifier dans le travail de M. Baumann.

E. F.

Dr Francesco Sanfelice. — **Des modifications que présentent quelques bactéries aérobies obligées et facultatives, cultivées en l'absence d'oxygène** (*Annali dell' Istituto d'igiene sperimentale della R. Università di Roma*, II, p. 345).

Ainsi que l'indique le titre de son Mémoire, M. Sanfelice a étudié les modifications que l'absence de l'oxygène apporte à certaines bactéries aérobies facultatives ou obligées. Parmi les bactéries non pathogènes, il a choisi surtout le *Proteus vulgaris*, le *Bacillus sub-*

tilis, et le *Bacillus indicus*. Les deux premiers ont été choisis en raison de leur fréquence dans les liquides en putréfaction, dans la terre et dans les eaux d'égout ; le troisième, en raison de son pouvoir chromogène. Les bactéries pathogènes adoptées pour ces expériences étaient la bactéridie charbonneuse, les staphylocoques pyogènes, le bacille pyocyanique, le bacille du choléra asiatique et le bacille de la morve. Ces différents microbes étaient cultivés dans des tubes d'agar recouverts de paraffine et inoculés à nouveau tous les 10 jours, ou bien sur plaques de gélatine recouvertes de plaques de verre stérilisées. Pour faire de nouvelles plaques, l'auteur se servait des colonies nées au centre de la plaque, comme étant celles qui avaient été tenues le plus à l'abri de l'oxygène.

Il résulte des recherches de l'auteur que les bacilles non pathogènes étudiés par lui perdent rapidement leurs propriétés peptonisantes (liquéfaction de la gélatine), ainsi que leur pouvoir chromogène (*Bac. indicus*) ; par contre, ils acquièrent la propriété de produire des gaz. Les mêmes résultats furent obtenus également avec d'autres bacilles liquéfiant la gélatine (bacille violet, bacille rouge de l'eau, *Bacillus mageterium*). Il est à noter que les nouvelles propriétés acquises par ces bactéries en l'absence de l'oxygène se conservent longtemps quand on les cultive dans la gélatine par les procédés habituels.

En ce qui concerne les bactéries pathogènes, voici les résultats obtenus par l'auteur.

Les *spores charbonneuses* ne perdent ni leur vitalité ni leur virulence. Quand elles sont privées d'oxygène, du moins après 300 jours, elles faisaient encore mourir tous les cobayes inoculés.

Les *bacilles sans spores* cultivés à l'abri de l'oxygène, — dans ceux-ci M. Sanfelice ne vit jamais de spores — se montrèrent virulents encore après 75 jours. Après 81 jours, ils ne donnaient plus la mort aux cobayes, et cela non pas à la suite d'une simple atténuation, mais parce qu'ils n'étaient plus vivants, ainsi que le prouva le résultat négatif des ensemencements dans des milieux nutritifs appropriés. Par contre, le pouvoir peptonisant se perd rapidement déjà à partir de la seconde génération.

Les *staphylocoques* perdent de même le pouvoir de liquéfier la gélatine, et donnent après 7 à 8 générations des cultures ressemblant à celles du streptocoque. Les cultures employées par l'auteur étant déjà vieilles et dépourvues de virulence, il ne put constater si l'absence d'oxygène modifie leur action pathogène.

Le *bacille pyocyanique*, qui est un aérobie obligé, perd dès les premières cultures sans oxygène son pouvoir chromogène. Après 7 à 8 générations, il perd également la propriété de liquéfier la gélatine.

Le *bacille du choléra* ne liquéfie plus la gélatine après 60 à 70 jours de culture en l'absence de l'oxygène.

Le *bacille de la morve* se développe très mal ou pas du tout sans oxygène. Quand on inocule, après 5-60 jours, les parties profondes de la piqûre dans de l'agar dans lesquelles on ne constate pas de développement, mais dans laquelle doivent se trouver les bacilles ensemencés, les animaux restent en vie ; le bacille n'est pas seulement atténué, mais tué par l'absence d'oxygène, car il ne se développe plus, non plus, dans les milieux nutritifs artificiels Après 2 ou 3 jours seulement de culture sans oxygène, il était au contraire encore virulent.

En somme, les bactéries pathogénes, comme les non pathogènes étudiées par l'auteur se développent mal et perdent leurs propriétés peptonisantes et chromogènes en l'absence d'oxygène.

Dans une seconde série d'expériences, M. Sanfelice rechercha comment se comportent quelques bactéries pathogénes dans les tissus d'organes tenus à l'abri de l'oxygène. Ces recherches sont surtout intéressantes en ce qu'elles permettent de juger de la vitalité de ces bactéries pathogènes dans les cadavres ensevelis dans la terre. Pour cela M. Sanfelice enlevait, de suite après la mort des morceaux d'organes et les recouvraient, dans un tube à essai tenu à la température de la chambre, d'une haute couche d'agar.

Le *bacille du charbon* fut trouvé vivant et virulent après 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 jours. Après 40 jours de plus, il était mort. A 37° le bacille du charbon fut trouvé mort, dans ces conditions, après 10 jours déjà. A quoi est due la vie plus courte du bacille charbonneux dans les organes tenus à l'abri de l'oxygène que dans les cultures sans oxygène ? L'auteur pense qu'il se forme peut-être dans les tissus des produits nocifs. M. Sanfelice constata aussi que, dans ces conditions, il ne se forme point de spores.

Traité de la même façon le *bacille de la morve* fut constamment trouvé mort après cinq jours et plus. Après 1, 2 et 3 jours, il était encore virulent.

Le microcoque septique de la salive reste vivant et virulent, en l'absence de l'oxygène, pendant 1, 4, 8, 10 et 14 jours. A partir du dix-huitième jour, il était mort.

E. F.

BIBLIOGRAPHIE

Ed. de Freudenreich. — **Die Bakteriologie in der Milchwirthschaft.** (Un vol. de 78 pages, avec fig., Bâle, 1893, éditeur Carl Sallmann.)

L'ouvrage que M. de Freudenreich vient de faire paraître sous le titre : *La bactériologie dans l'industrie laitière* comprend deux parties : l'une *générale*, l'autre *spéciale*.

Dans la première partie l'auteur traite avec méthode et simplicité de la morphologie des bactéries, de leurs caractères généraux, des procédés de culture que réclame leur étude et termine par une courte excursion dans le domaine des champignons inférieurs. L'auteur n'oublie pas un instant qu'il s'adresse, du reste comme il le déclare dans l'Introduction de son livre, à des élèves absolument novices auxquels des notions élémentaires de bactériologie sont indispensables pour comprendre la partie spéciale qui suit, c'est-à-dire celle qui a trait à l'industrie laitière.

Ce n'est pas sans un véritable plaisir qu'on entend un bactériologiste aussi distingué que M. de Freudenreich décrire avec une simplicité et une lucidité merveilleuses, les premières notions d'une science devenue aujourd'hui très vaste et qui va de jour en jour en grandissant davantage. Il n'était pas aisé de condenser en quelques courts paragraphes ce que des pléiades d'auteurs nous ont appris sur les bactéries. Cependant, quand on a lu le livre de M. de Freudenreich, il reste l'impression que tout a été dit et que ce qui a été négligé ne valait pas la peine d'être signalé.

On pouvait craindre que la seconde partie du livre de M. de Freudenreich serait traitée d'une façon moins parfaite ou plutôt d'une façon moins simple, par la raison que cet auteur si estimé, universellement connu par ces belles recherches relatives à l'industrie fromagère, abordait le sujet favori de ses études ; il n'en a rien été : la partie spéciale de son livre de bactériologie est tout aussi remarquablement écrite que la première.

Nous y lisons d'abord : l'énumération des bactéries pathogènes qui peuvent croître et se rencontrer dans le lait, puis celle des microorganismes chromogènes qui peuvent en altérer la couleur, et, finalement, celle des bactéries qui déterminent sa fermentation lactique et la transformation de sa caséine.

Plus loin plusieurs pages sont consacrées à la stérilisation de ce liquide animal dont la consommation augmente d'année en année et dont le pouvoir nutritif bienfaisant n'est plus à démontrer. Deux sortes de moyens sont indiqués pour conserver ce liquide : les uns consistent à ajouter au lait des produits chimiques: sels de soude,

acides borique, salicylique, etc.; les autres à faire agir sur lui quelques agents physiques : le froid, l'électricité, la chaleur. M. de Freudenreich estime que la pasteurisation du lait peut rendre, à cet égard, les plus grands services. Si le froid est de même un excellent moyen de conservation, il a le grave inconvénient de ne pas priver le lait des microbes qui le peuplent à l'origine et au nombre desquels peut se trouver le bacille de la tuberculose.

L'opinion si autorisée de M. de Freudenreich nous paraît devoir faire loi en cette matière ; il vaut mieux, en effet, modifier quelque peu la constitution ou les propriétés de la caséine du lait que de s'exposer à introduire dans le tube digestif des microbes pathogènes avec les bactéries dont les mamelles des vaches vont s'imprégner en traînant sur les fumiers et les purins, les nourrisseurs, de même, ne pèchent pas d'habitude par excès de propreté. M. de Freudenreich a démontré qu'un lait qui, au moment de la traite, ne doit pas renfermer de microorganismes en contient une vingtaine de mille par centimètre cube ; de ce fait, un malade soumis au régime lacté et qui prendrait pour tout aliment 4 litres de lait cru par jour ingurgiterait par la même occasion une centaine de millions de microbes. Est-ce le cas de s'écrier : *Quod abundat non viciat ?* Les bactériologistes ne paraissent pas professer cette théorie, d'ailleurs, depuis qu'ils ont stimulé le zèle des hygiénistes, qui se sont mis également à chasser les microbes, les résultats bienfaisants pour l'humanité ne sont pas fait attendre : la durée moyenne de la vie humaine a augmenté chez les peuples civilisés.

Si l'on se préoccupe avec juste raison d'enlever par des ventilations efficaces les microbes des habitations, si on se fait un devoir de servir aux habitants des villes des boissons et des aliments contenant des quantités minima de bactéries, de quels soins ne doit-on pas entourer l'alimentation lactée de nos jeunes bébés, qui eux, sans souci, avalent tout ce qu'on leur donne : beurre, sucre, sérum, caséine et microbes, et ne s'en portent pas plus mal, disent quelques sceptiques ? Cela dépendant peut-être des villes, ici, à Paris, je lis dans un ouvrage intitulé *Annuaire de statistique municipale de la ville de Paris* pour 1882 : Enfants allaités au biberon morts de gastro-entérite, 4,500, tandis que la mortalité des enfants nourris au sein est presque insignifiante à côté de ce chiffre. Il semble bien que ce soit au lait qu'il faille attribuer ces douloureuses hécatombes et ceux qui, comme M. de Freudenreich, se sont faits les promoteurs de la stérilisation du lait, non pas seulement dans les journaux scientifiques, mais en répandant à profusion des brochures sur ce sujet, par exemple à l'Exposition universelle de Paris en 1889, ont bien quelque droit à notre reconnaissance.

Le livre dont nous venons de donner une vue d'ensemble est déjà traduit en plusieurs langues. Nous aurons bientôt la satisfaction de le voir publié en français ; sa place est plutôt marquée dans les mains

des gens du monde, des mères de famille intelligentes que dans ces vastes columbarium des œuvres de l'esprit humain qu'on appelle les bibliothèques. Les étudiants en pharmacie et en médecine pourront le méditer avec fruit; les nourrisseurs et les élèves des fermes-écoles devront s'en inculquer le contenu. Quant aux bactériologistes de profession, ils le liront certainement avec plaisir et y puiseront, peut-être, quelques notions sur l'art d'être clair, simple et compréhensible pour ceux qui sont appelés à appliquer les préceptes et les enseignements qui naissent de leurs savantes et utiles recherches.

F. S.

Dr P. Baumgarten. — **Jahresbericht ueber die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen.** Rapport annuel sur les progrès réalisés dans la doctrine des microorganismes pathogènes. Septième année, 1891. (Brunswick, chez Harald Bruhn.)

Le Rapport annuel que publie M. Baumgarten sur les travaux suscités par les recherches sur les microbes pathogènes vient enfin de paraître pour l'année 1891. La cause de ce retard est due surtout à l'abondance des travaux provoqués par la tuberculine de Koch, qui a entraîné un surcroît de travail pour l'auteur. Aussi le Rapport pour 1891 forme-t-il un volume de 919 pages, dans lequel 1269 Mémoires sont analysés avec le soin qui caractérise les travaux de M. Baumgarten et de ses collaborateurs.

Pour éviter des retards semblables l'auteur a augmenté le nombre de ses collaborateurs et s'est adjoint un co-rédacteur, le Dr Roloff, qui se chargera, mais toujours sous la direction de M. Baumgarten, d'une partie des travaux de rédaction. Aussi l'auteur nous promet-il que le Rapport pourra dorénavant toujours paraître dans les six premiers mois suivant la fin de l'exercice.

Nous n'avons plus à faire l'éloge de cet ouvrage devenu absolument indispensable à tous les bactériologistes pour lesquels il constitue une source de renseignements précieux. Comme d'habitude, une table des auteurs et une table des matières facilitent les recherches.

E. F.

PUBLICATIONS RÉCENTES

Dr Otto Lanz. — Experimentelle bacilläre Polyarthritis suppurativa. Polyarthrite bacillaire suppurative expérimentale.

L'auteur décrit un bacille trouvé dans un abcès du cerveau consécutif à une otite moyenne qui, inoculé aux lapins par voix intraveineuse, provoque une polyarthrite suppurative. Ce bacille res-

semble au *Bac. pyogenes fœtidus* de Passet et Burci, sauf qu'il liquéfie la gélatine très rapidement, surtout quand il n'a pas encore été cultivé longtemps sur des terrains de culture artificiels. M. Lanz propose de l'appeler *Bacillus pyogenes fœtidus liquefaciens*.

Dr A. Reinsch. — Ueber die Entnahme von Wasserproben behufs bakteriologischer Untersuchung bei den Sandfiltern älterer Konstruktion. De la manière de recueillir les échantillons d'eau pour l'analyse bactériologique de l'eau des filtres de sable d'ancienne construction.

L'auteur décrit un appareil destiné à recueillir l'eau dans les tuyaux des filtres de sable.

Uffelmann. — Können lebende Cholerabacillen mit dem Boden und Kehrichtsstabbe durch die Luft verschleppt werden? Les bacilles cholériques peuvent-ils être entraînés par l'air avec la poussière du sol et des balayures? (*Berliner Klin. Wochenschrift*, 1893, n° 26.)

Dans ses expériences, l'auteur mélangeait les bacilles cholériques dilués dans de l'eau et dans des selles liquides avec de la terre, du sable et de la poussière.

Il en résulte que la simple dessiccation à l'air, sous l'action du soleil, tue la plus grande partie des bacilles cholériques. Cependant quelques-uns peuvent rester vivants quelques heures, quelquefois même un jour et exceptionnellement trois jours, après dessiccation complète de ces matières. La possibilité d'une infection par l'air n'est donc pas exclue, bien qu'elle paraisse devoir être très rare.

R. Koch. — Die Cholera in Deutschland während des Winters 1892 bis 1893. Le choléra en Allemagne pendant l'hiver 1892 à 1893. (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XV, p. 88.)

L'auteur retrace au point de vue épidémiologique la marche du choléra en Allemagne pendant l'hiver 1892-93, travail que son importance interdit de résumer en quelques lignes, mais dont l'étude est indispensable à ceux qui s'intéressent à la lutte qui se poursuit entre les écoles de Berlin et de Munich au sujet du choléra et de ses causes.

R. Heerwagen. — Die Cholera in Riga 1892. Le choléra à Riga en 1892. (*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*, XV, p. 11.)

Comme le titre l'indique, ce travail constitue une contribution à l'étude épidémiologique et statistique du choléra.

C. Bernabei. — Eliminazione dei microgermi patogeni per la cute in caso d'infezione puerperale. Elimination des microorganismes pathogènes par la peau en cas d'infection puerpérale. (*Bolletino della Reale Accademia medica di Roma*, XXII, fasc. VIII.)

Après MM. Brunner, Eiselsberg et Tizzoni qui ont constaté la présence de microbes pathogènes dans la sueur et dans le contenu de vésicules miliaires, l'auteur rapporte un cas d'infection puerpérale dans lequel le streptocoque s'élimina par les vésicules miliaires et par le pus d'abcès sous cutanés.

G. Colasanti. — Ricerche batteriologiche comparate tra l'azione dello iodoformio, aristolo e dermatolo. Recherches bactériologiques comparées entre l'action de l'iodoforme, de l'aristol et du dermatol. (*Bolletino della Reale Accademia medica di Roma*, XVII, fasc. VII).

L'auteur conclut de ses recherches que l'action antiseptique de l'aristol est sensiblement inférieure à celle de l'iodoforme et du dermatol. Ce dernier serait supérieur à l'iodoforme en ce qui concerne les microbes pyogènes; pour les autres microorganismes, objets de ces expériences (bac. pyogène, typhique, *acidi lactici*, cholérique et vibrion de Finkler) le pouvoir du dermatol et de l'iodoforme serait à peu près égal.

ERRATA

AU MÉMOIRE DU Dr BARNABEO

Annales de micrographie, t. V, page 305.

Page 309, ligne 27 : *au lieu de* : ont la faculté... *lire* : sont davantage attirés dans les tubes.

Page 309, ligne 31 : *après* suppuration *tracer les mots* (Chimiotaxie négative).

Page 316, ligne 15 : *au lieu de* : une chimiotaxie négative... *lire* : un moindre pouvoir chimiotaxique.

Page 316, ligne 16 : *au lieu de* : production exagérée *lire* : augmentation et la production.

Page 316, ligne 18 : *ajouter après* : se servir, *le mot* suffisamment.

Page 329, ligne 4 : *lire* : 3° que l'organisme répond par une augmentation de la leucocytose au besoin plus grand qui se fait sentir de leucocytes et, par cela, à l'appauvrissement relatif du sang.

L'Éditeur-Gérant : Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

DE L'INFLUENCE DES AGENTS PHYSICO-CHIMIQUES SUR LES ANAÉROBIES PATHOGÈNES DU SOL

(*Suite et fin*)

PAR

Le Docteur FRANCESCO SANFELICE
(Institut d'hygiène expérimentale de l'Université royale de Rome)

CHAPITRE SECOND

Les anaérobies pathogènes du sol étudiés dans leurs rapports avec l'humidité

a. — De la manière de se comporter des anaèrobies pathogènes dans les eaux

Précédemment déjà, dans mon travail (1) sur les microorganismes qui se trouvent constamment dans le sol, j'ai rapporté les résultats des inoculations de différents échantillons de terre qui avaient été tenus pendant quelque temps dans l'eau. Un premier échantillon resté 4 mois dans l'eau à la température ordinaire et à l'abri de la lumière et inoculé à un cobaye, l'avait fait mourir d'œdème malin; un second échantillon de terre, tenu dans l'eau pendant 3 1/2 mois, avait fait mourir un cobaye de tétanos; un troisième échantillon de terre, tenu aussi 3 1/2 mois dans

(1) 1891. Contributo allo studio dei batteri patogeni aerobi ed anaerobi che si trovano constantemente nel terreno. *Annali dell'Istituto d'Igiene della R. Università di Roma*, I, nuova serie, p. 365.

l'eau, avait donné l'œdème malin au cobaye auquel on l'avait inoculé. De ces expériences on peut déduire que *tant les spores du bacille du tétanos que celles du bacille de l'œdème malin se conservent longtemps dans l'eau sans perdre leur virulence.* Même, lorsque je tenais les émulsions de terre à l'étuve à 37 degrés, j'avais pu constater qu'inoculées après plusieurs mois à des cobayes elles les faisaient périr de tétanos ou d'œdème malin.

Dans cette nouvelle série de recherches, je me suis proposé non seulement de confirmer le fait que je viens de rapporter, mais aussi de voir si les spores des anaérobies pathogènes du sol peuvent rester longtemps en vie lorsqu'on les transporte des cultures sur gélatine dans des eaux potables communes. A cet effet, j'ai pratiqué une série d'inoculations avec des échantillons de terre que j'avais conservés dans de l'eau depuis plusieurs mois. Ainsi qu'on le voit par le tableau suivant :

Spores des anaérobies pathogènes du sol dans l'eau

ÉCHANTILLONS DE TERRE conservés dans de l'eau à la température ordinaire	COBAYES MORTS DE	ÉCHANTILLONS DE TERRE conservés dans de l'eau à la température de 37°	COBAYES MORTS DE
Après 1 mois	Tétanos	après 1 mois	Œdème malin
» 2 »	»	» 2 »	Tétanos
» 3 »	»	» 3 »	Tétanos
» 4 »	»	» 4 »	Œdème malin
» 5 »	»		

tant les échantillons de terre tenus à la température ordinaire que ceux placés à l'étuve à 37 degrés ont fait mourir d'œdème malin ou de tétanos les cobayes auxquels ils ont été inoculés. Ces résultats confirment, ainsi, que les spores des bacilles de l'œdème malin et du tétanos se conservent pendant plusieurs mois dans les eaux potables communes.

Schwarz (1) a également observé que le virus tétanique

(1) 1891. Schwarz, Sulla maniera di comportarsi del virus tetanico nelle acque. *Hygienische Rundschau*, I, p. 557.

trouve dans l'eau, quelle que soit son espèce, des conditions favorables à son existence et qu'il subit au début, dans les eaux non stérilisées, une atténuation progressive du fait de la multiplication des bactéries vulgaires, mais qu'il récupère bientôt sa virulence dès que l'action de ces derniers vient à manquer, fait qui ne se produit pas dans les eaux stérilisées dans lesquelles il conserve sa virulence d'une manière constante. Cette atténuation se produit plus ou moins vite et dure plus ou moins longtemps selon que les saprophytes se multiplient avec plus ou moins de rapidité sous l'influence de la température.

J'ai déjà rapporté, dans un travail précédent, que des émulsions de dix-huit échantillons de terre dans du bouillon, tenues 8 à 10 jours à l'étuve et filtrées à travers le filtre de Chamberland, avaient fait mourir avec tous les symptômes du tétanos 18 cobayes auxquels le filtratum avait été injecté à la dose de 30-40 centimètres cubes en plusieurs jours dans le tissu sous-cutané. Il résulte de ces expériences qu'à la température de 37 degrés, et malgré la présence de beaucoup d'autres germes, le bacille du tétanos est capable de se multiplier et, par conséquent, de produire sa tétanotoxine. On s'explique facilement que le filtratum des émulsions de terre dans du bouillon tenues quelques jours à l'étuve doive être inoculé en quantité plus grande que le filtratum d'une culture pure dans du bouillon, pour faire mourir les cobayes du tétanos. Dans les cultures pures, le bacille du tétanos a pu utiliser tout le substratum nutritif pour son développement, tandis que dans les émulsions de terre dans du bouillon il ne peut en employer qu'une partie, se trouvant en concurrence avec de nombreux microbes étrangers. Ayant répété ces expériences toujours avec le même résultat, comment admettre avec Schwarz, que la multiplication des bactéries vulgaires amène une atténuation progressive du bacille tétanique ? Je crois que cet auteur attribue à une atténuation, ce qui, au contraire, est dû à une diminution dans la production de la toxine, à cause de la présence des autres bactéries vulgaires.

Les eaux potables (eau Marcia, eau Vergine), auxquelles j'avais ajouté des cultures pures sur gélatine des bacilles

de l'œdème malin, du tétanos et du charbon symptomatique, ont donné, inoculées après 5, 10, 15 jours et plus à des cobayes, des résultats positifs. A 100-200 centimètres cubes d'eau potable, j'ajoutais 1 à 2 vieilles cultures sur gélatine des trois anaérobies pathogènes et, après avoir fermé les récipients avec des bouchons de caoutchouc, je les conservais à la température ordinaire et à l'abri de la lumière.

Avant d'inoculer l'eau qui contenait les spores des bacilles du tétanos, je la chauffais pendant 5 minutes à 80 degrés pour détruire la tétanotoxine. Ainsi que nous l'avons vu plus haut, les vieilles cultures de tétanos sur gélatine, soumises pendant 5 minutes à la température de 80 degrés et inoculées ensuite dans le tissu sous-cutané des cobayes, ne donnent plus lieu à la manifestation de symptômes tétaniques, ce qui prouve que la tétanotoxine est détruite. Il va de soi qu'il faut inoculer une forte dose de l'eau contenant les spores du bacille tétanique pour que les animaux meurent.

J'ai aussi voulu voir si les spores contenues dans la viande desséchée des animaux morts d'œdème malin et de charbon symptomatique peuvent vivre plusieurs jours dans les eaux potables. Dans des récipients contenant 100-200 centimètres cubes d'eau non stérilisée j'ai versé 30 à 40 centigrammes de poudre de viande et les ai ensuite conservés à la température de la chambre. Après 5, 10, 25 jours et plus, j'ai pratiqué des inoculations sur des cobayes, qui tous sont morts d'œdème malin et de charbon symptomatique.

De ces expériences, on peut déduire que les *spores des anaérobies pathogènes du sol restent vivantes pendant plusieurs jours dans l'eau et qu'elles y conservent leur virulence.*

b. — De la manière de se comporter des anaérobies pathogènes dans l'eau en présence de substances organiques animales et végétales en putréfaction.

Après avoir démontré que les anaérobies pathogènes du sol peuvent se conserver pendant plusieurs jours dans les

eaux non stérilisées sans perdre leur virulence, il était intéressant de voir si la même chose aurait lieu dans des eaux qui contenaient des substances organiques animales et végétales en putréfaction. Dans ce but, je laissai se putréfier des végétaux dans quelques récipients contenant 100 à 200 centimètres cubes d'eau non stérilisée ; dans d'autres ballons je mis des morceaux de viande de cheval et de lapin. Après avoir tenu ces ballons pendant quelques jours à l'étuve à 37 degrés et m'être assuré par des inoculations pratiquées sur des animaux qu'ils ne contenaient pas de microorganismes pathogènes, j'y ajoutai de la terre stérilisée renfermant les spores des trois anaérobies pathogènes, et préparée ainsi que je l'ai exposé plus haut. Quant à la terre qui contenait les spores du bacille du tétanos, j'ai eu soin, avant de l'ajouter aux infusions putrides de viande et de végétaux, de la soumettre à l'action de la chaleur pour détruire la tétanotoxine. Une partie de ces récipients furent tenus à l'étuve à 37 degrés, les autres à la température de la chambre. Je puis dire que jusqu'ici les résultats des inoculations aux animaux ont été identiques, tant dans un cas que dans l'autre.

Les spores des bacilles de l'œdème malin, après être restées 5, 10, 15 jours et plus tant dans les infusions putrides de viandes que dans celles de végétaux, ont conservé leur virulence ; en effet, inoculées à des cobayes, elles les ont tués en 24 heures. J'ai obtenu le même résultat avec le bacille du charbon symptomatique.

Quant aux spores des bacilles du tétanos mises dans des infusions putrides, j'ai pu faire une expérience qui m'a donné la certitude que les germes du tétanos peuvent non seulement vivre en présence des microorganismes de la putréfaction, mais qu'ils peuvent aussi s'y multiplier. Ainsi que je l'ai dit plus haut, j'avais ensemencé uniquement des spores de bacilles tétaniques dans les infusions putrides, puisque j'avais détruit la tétanotoxine par la chaleur. Après avoir laissé les infusions à l'étuve à 37 degrés pendant 10 à 15 jours, je les ai filtrées à la bougie Chamberland et j'ai inoculé le filtratum à des cobayes ; ceux-ci moururent de tétanos. Pour produire la tétanotoxine, les spores ont donc dû germer et donner lieu

au développement des bacilles. Bombicci (1) a également observé que le bacille du tétanos résiste très longtemps à la putréfaction et que le pouvoir de résistance du virus tétanique à la putréfaction est plus marqué dans une température plutôt élevée, moins dans une température basse.

Il résulte de tout ce que j'ai exposé que *les germes anaérobies pathogènes du sol restent vivants pendant plusieurs jours dans les eaux potables communes, même si elles contiennent des substances organiques animales et végétales en putréfaction.*

c. — Résistance des anaérobies pathogènes à la dessiccation

Presque tous les auteurs qui se sont occupés de la biologie des anaérobies pathogènes du sol ont observé que les spores des bacilles de l'œdème malin, du tétanos et du charbon symptomatique sont très résistantes à l'action de la dessiccation. Arloing, Cornevin et Thomas (2) ont vu que le virus desséché du charbon symptomatique conserve longtemps sa virulence. Kitasato (3) aussi a observé que les spores du bacille de charbon symptomatique, tant dans les cultures sur les terrains nutritifs ordinaires que dans la viande d'animaux morts de cette maladie, conservent, quand on les met dans l'exsiccateur, leur virulence pendant plusieurs mois. Le même auteur a également observé que des fils de soie imprégnés de spores tétanigènes et placés dans l'exsiccateur étaient encore virulents après un temps considérable. Turco (4) est arrivé aux mêmes résultats en se servant comme objets de recherche des matières recueillies au point d'inoculation des animaux morts de tétanos.

---

(1) Bombicci, 1891, Sur la résistance à la putréfaction du virus tétanique. *Centralblatt für Bakteriologie*, X, p. 21.

(2) *Loc. cit.*

(3) Kitasato, 1890, Ueber das Wachsthum des Rauschbrandbacillus in festen Nährsubstraten. *Zeitschrift für Hygiene*, XIII, p. 55.

(4) *Loc. cit.*

Il m'intéressait de rechercher seulement si les spores des anaérobies pathogènes contenues dans la terre peuvent résister à la longue à la dessiccation dans les conditions qui accompagnent celle-ci dans la nature.

J'ai étudié cette action directement sur les spores des anaérobies pathogènes contenues dans la terre et sur des spores de cultures artificielles mélangées avec de la terre stérilisée d'après la méthode que j'ai exposée plus haut. Tant la terre recueillie directement du sol que la terre stérilisée contenant les spores des trois anaérobies pathogènes furent maintenues pendant plusieurs mois en partie à l'étuve à 37 degrés, en partie à la température de la chambre et à l'abri de la lumière.

Les inoculations pratiquées sur les animaux après 1, 2, 3, 4, 5, 6 mois et plus ont toujours donné des résultats positifs.

Il résulte de ces expériences que *les spores des anaérobies pathogènes du sol résistent pendant plusieurs mois à la dessiccation spontanée.*

CHAPITRE TROISIÈME

Action des éléments chimiques du sol sur les anaérobies pathogènes

Après avoir étudié l'action que la chaleur et la lumière solaire exercent sur les anaérobies pathogènes du sol, le mode de se comporter de ces derniers dans les eaux et leur résistance à la dessiccation, il était nécessaire, pour compléter l'étude de la biologie des anaérobies pathogènes du sol, d'étudier l'action que peuvent exercer sur eux les gaz qui se trouvent éventuellement (hydrogène sulfuré, ammoniaque) ou constamment (acide carbonique) dans le sol ainsi que celle des divers sels qui s'y rencontrent.

a. — Action des gaz sur les anaérobies pathogènes du sol

Devant inoculer les germes anaérobies pathogènes du sol après les avoir soumis à l'action de différents gaz, je ne pouvais me servir de cultures sur gélatine. J'ai, par contre, soumis à l'action des gaz de la terre stérilisée à laquelle j'ajoutais des cultures pures sur agar des anaérobies pathogènes. Pour chaque expérience, j'enveloppais un gramme de terre contenant les spores des bacilles de l'œdème malin, du tétanos ou du charbon symptomatique, dans de la gaze très fine que je suspendais au moyen d'un fil dans un gros tube fermé par un bouchon de caoutchouc percé de deux trous par l'un desquels un tube de verre plongeait jusqu'au fond (tube d'arrivée du gaz), tandis que l'autre laissait passer un tube de verre dépassant à peine le bouchon (tube de sortie du gaz). Les parties extérieures des tubes étaient recourbées en angle droit et munies au milieu d'un léger étranglement. Cet appareil était, en un mot, pareil à celui employé par Fraenkel pour la culture des microbes anaérobies.

Après avoir mis cet appareil en communication avec celui servant à développer le gaz dont on voulait expérimenter l'action, on fermait à la flamme les deux tubes horizontaux extérieurs après 1 à 2 heures, d'abord le tube de sortie et ensuite le tube d'arrivée. De cette façon, on était certain que les spores contenues dans la terre se trouvaient dans un milieu plein du gaz à étudier. La disposition de l'appareil montre clairement que l'on se rapprochait ainsi le plus possible des conditions qui peuvent se rencontrer dans la nature.

L'action des gaz sur les spores des anaérobies pathogènes du sol une fois arrivée à sa fin, on enlevait le bouchon et, après avoir tenu la terre quelque temps à l'air pour en chasser le gaz resté à l'intérieur, on faisait de celle-ci une émulsion dans du bouillon stérilisé, qui était inoculée dans le tissu sous-cutané de cobayes au moyen d'une seringue pourvue d'une grosse aiguille.

Je commencerai par exposer les résultats obtenus par l'inoculation des spores des anaérobies pathogènes soumises à l'action de l'hydrogène sulfuré. Ainsi qu'on le voit par le tableau suivant :

Spores des anaérobies pathogènes soumises à l'act. de l'hydr. sulfuré

PENDANT	SPORES DES BACILLES de l'œdème malin	PENDANT	SPORES DES BACILLES du tétanos avec tétanotoxine	PENDANT	SPORES DES BACILLES du tétanos sans tétanotoxine	PENDANT	SPORES DES BACILLES du charbon sympt.
20 heures	+	20 heures	+	20 heures	+	20 heures	+
24 »	+	30 »	+	30 »	+	24 »	+
26 »	+	40 »	+	40 »	+	26 »	—
27 »	—	50 »	+	50 »	+	27 »	—
30 »	—	60 »	+	60 »	+	30 »	—
40 »	—	90 »	+	90 »	+	40 »	—
		100 »	+	100 »	+		

dans lequel les signes + et — se rapportent aux résultats des inoculations aux cobayes, *les spores des bacilles de l'œdème malin résistent pendant 26 heures à l'action de l'hydrogène sulfuré, mais sont tuées après 27 heures. Les spores des bacilles du charbon symptomatique sont détruites entre 24 et 26 heures. Beaucoup plus résistantes sont, au contraire, les spores des bacilles du tétanos.* Les spores sans tétanotoxine sont aussi résistantes que celles dans lesquelles la tétanotoxine n'a pas été détruite. L'action que l'hydrogène sulfuré exerce sur les spores contenues dans la viande desséchée de cobayes morts d'œdème malin et de charbon symptomatique est identique à celle que ce gaz exerce sur les spores des mêmes microorganismes contenues dans de la terre stérilisée. La viande desséchée et finement pulvérisée était soumise à l'action de l'hydrogène sulfuré par quantités de 30 centigrammes.

J'ai employé la même méthode pour étudier la résistance des spores des anaérobies pathogènes du sol à l'action de l'ammoniaque à l'état gazeux.

Spores des anaérobies pathogènes soumises à l'action du gaz ammoniac

PENDANT	SPORES DES BACILLES de l'œdème malin	PENDANT	SPORES DES BACILLES du tétanos avec tétanotoxine	PENDANT	SPORES DES BACILLES du tétanos sans tétanotoxine	PENDANT	SPORES DES BACILLES du charbon sympt.
1 heure	+	2 heures	+	2 heures	—	1 heure	+
2 heures	+	3 »	+	3 »	+	2 heures	+
2 h. 1/2	+	4 »	+	4 »	—	2 h. 1/2	—
3 »	—	5 »	—	5 »	—	3 »	—
4 »	—	6 »	—	6 »	—	4 »	—

Les spores des bacilles de l'œdème malin résistent 2 heures et demie à l'action de ce gaz et sont détruites après 3 heures. Les spores du bacille du charbon symptomatique, par contre, résistent 2 heures et sont tuées après 2 heures et demie. Les spores du bacille du tétanos sont plus résistantes et supportent l'action du gaz ammoniac pendant 3 heures, mais sont tuées après 4 heures. Le ré-

sultat est différent quand on emploie de la terre contenant des spores tétaniques sans en avoir détruit la tétanotoxine par la chaleur. On voit alors cette terre donner, en effet, le tétanos encore après 4 heures, mais non après 5 heures. Dans ce cas, le tétanos est, sans nul doute, dû à la tétanotoxine et non aux spores qui sont tuées après 3 heures. *La tétanotoxine est donc détruite par l'action du gaz ammoniac entre 4 et 5 heures.* Kitasato (1) a également constaté que l'ammoniaque à 0,96 p. 100 détruit la tétanotoxine en 24 heures. On s'explique facilement la différence entre les résultats de Kitasato et les miens par la quantité plus grande d'ammoniaque à laquelle j'ai exposé la tétanotoxine.

Récemment von Rigler (2) a étudié l'action désinfectante des vapeurs d'ammoniaque et il a trouvé que les bacilles du choléra et du typhus étaient tués après 2 heures, les bacilles et les spores du charbon après 3 heures et les bacilles de la diphtérie après 4 heures.

Les spores contenues dans la viande d'animaux morts d'œdème malin et de charbon symptomatique se sont montrées également résistantes à l'action du gaz ammoniac.

De tout ce que j'ai exposé relativement à l'action de l'hydrogène sulfuré et du gaz ammoniac sur les spores des anaérobies pathogènes du sol il résulte que ces deux gaz exercent sur elles une action stérilisante, surtout le gaz ammoniac, moins l'hydrogène sulfuré. Ces résultats confirment, en outre, le même fait observé à l'égard de l'action de la chaleur et de la lumière solaire, savoir que les spores les plus résistantes sont celles du bacille du tétanos, moins celle de l'œdème et moins encore celles du charbon symptomatique.

L'action de l'acide carbonique a déjà été étudiée par d'autres auteurs sur des microbes pathogènes et sur des microbes non pathogènes. Fraenkel (3) a observé que toutes

---

(1) 1891. Kitasato, Experimentelle Untersuchungen über das Tetanusgift. *Zeitschrift für Hygiene*, X, p. 267.

(2) 1893. Von Rigler, Desinfektion mittels Ammoniakdämpfen. *Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 657.

(3) 1892. Fraenkel, Die Einwirkung der Kohlensäure auf die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen. *Centralblatt für Bakteriologie*, XI, p. 450.

les bactéries ne se comportent pas de la même manière à l'égard de ce gaz. Quelques-unes se développent dans l'acide carbonique comme en présence de l'air, quoique un peu plus lentement (bacille du typhus, bacille d'Emmerich, bacille de Brieger, pneumobacille de Friedlaender), d'autres ne s'y développent pas du tout (bacille du charbon, bacille du choléra). Ces résultats ont aussi été confirmés par Frankland (1). Nourry et Michel (2) expérimentant l'action de l'acide carbonique sur le lait ont observé que ce gaz n'en tue pas les microorganismes, mais qu'il en retarde seulement le développement. Comme pour les autres gaz, j'avais intérêt à étudier l'action que peut exercer sur les spores des anaérobies pathogènes l'acide carbonique.

En ce qui concerne la méthode de recherche, je n'ai pas seulement employé la méthode de Fraenkel (passage du gaz à travers les cultures de bouillon), mais je me suis également servi de la méthode décrite plus haut, en tenant la terre stérilisée mélangée avec des cultures pures sur agar des trois anaérobies pathogènes en suspension dans un milieu rempli d'acide carbonique.

Pour ensemencer les tubes contenant le bouillon stérile à travers lequel je voulais faire passer l'acide carbonique je me suis servi de cultures pures dans la gélatine que j'avais soumises à l'action de la chaleur pour tuer les bacilles, et ne laisser que les spores. Après avoir ensemencé les tubes contenant le bouillon, on les fermait avec des bouchons de caoutchouc traversés par deux tubes de verre recourbés à angle droit, dont l'un allait jusqu'au fond du tube, tandis que l'autre s'arrêtait au-dessous du bouchon. Les branches horizontales des deux tubes étaient étranglées au milieu. Après avoir laissé passer l'acide carbonique pendant quelque temps à travers le bouillon avant et après l'inoculation, on fermait à la flamme d'abord le tube de sortie, puis le tube d'arrivée ; les cultures étaient tenues à l'étuve à 37 degrés.

J'ai constamment observé qu'il ne se produisait aucun développement dans ces tubes, même après plusieurs jours passés à l'étuve. Ces résultats confirment pleinement ceux de Fraenkel (3), qui a constaté que tant *les germes de*

---

(1) 1889. Frankland, Ueber den Einfluss der Kohlensäure und anderer Gase auf die Entwickelungsfähigkeit der Mikroorganismen. *Zeitschrift für Hygiene*, VI, p. 13.

(2) 1893. Nourry et Michel, Action microbicide de l'acide carbonique dans le lait. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, CXV, p. 959.

(3) *Loc. cit.*

l'œdème malin que ceux du charbon symptomatique ne se développent pas en présence de l'acide carbonique. Je dirai dans un travail ultérieur si l'acide carbonique exerce cette action seulement sur les spores ou bien aussi sur les bacilles. Actuellement, je me borne à faire observer que *les spores des anaérobies pathogènes qui n'ont pas germé en présence de l'acide carbonique se développent abondamment quand on les transporte sur d'autres terrains nutritifs.*

Le fait que l'acide carbonique ne cause aucun dommage aux spores des anaérobies pathogènes est confirmé par les expériences pratiquées sur de la terre stérilisée contenant les mêmes spores. En effet, le tableau suivant, dans lequel les signes + et — indiquent comme dans les deux précédents, les résultats des inoculations aux animaux d'expérience, montre que les spores des anaérobies pathogènes ne sont pas même tuées par un séjour de 100 heures dans un milieu d'acide carbonique. Ceci explique qu'on ait trouvé des spores des bacilles de l'œdème malin et du tétanos jusqu'à une profondeur de 2 mètres.

Spores des anaérobies pathogènes soumises à l'action de l'acide carbonique

PENDANT	SPORES DES BACILLES de l'œdème malin	PENDANT	SPORES DES BACILLES du tétanos avec toxine	PENDANT	SPORES DES BACILLES du tétanos sans toxine	PENDANT	SPORES DES BACILLES du charbon sympt.
20 heures	+	20 heures	+	20 heures	+	20 heures	+
30 »	+	30 »	+	30 »	+	30 »	+
50 »	+	50 »	+	50 »	+	50 »	+
70 »	+	70 »	+	70 »	+	70 »	+
90 »	+	90 »	+	90 »	+	90 »	+
100 »	+	100 »	+	100 »	+	100 »	+

On sait, par les recherches de Fodor, de Nicols et de Roster (1), que l'acide carbonique augmente à mesure que l'on s'approche des couches profondes du sol, et l'on

(1) 1893. Roster, L'acido carbonico del suolo. *Annali dell'Instituto d'Igiene della R. Università di Roma*, III, p. 775.

cherche l'explication de ce fait, non dans une production plus considérable de ce gaz dans les couches profondes, mais plutôt dans son accumulation du fait qu'il ne trouve pas une voie de sortie comme dans les couches supérieures.

Il était, par conséquent, intéressant de rechercher si l'acide carbonique, qui se trouve à diverses profondeurs du sol, s'y trouve en telle quantité qu'il puisse porter atteinte aux spores des anaérobies pathogènes, d'autant plus que j'en avais enfoui à diverses profondeurs des cultures pures. J'ai fait des déterminations périodiques de ce gaz dans deux jardins, dans celui de l'Institut d'hygiène et dans celui de l'Institut anatomique, dans le premier à 60 centimètres de profondeur, dans le second à 2 mètres, et cela dans les endroits correspondant à ceux où j'avais enfoui les germes des anaérobies en cultures pures.

La détermination était faite d'après la méthode de Pettenkofer; le tableau suivant en indique les résultats.

DATE	CO^2 sur 1000 d'air à 0,60 cm.	TEMPÉRATURE DU SOL à 0,60 cm	TEMPÉRATURE MOYENNE DE l'atmosphère	DATE	CO^2 sur 1000 d'air à 2 m	TEMPÉRATURE du sol à 2 m.	TEMPÉRATURE MOYENNE DE l'atmosphère
19 juin	0,720	22,2	24.2	23 juillet	1,210	23,5	26,5
20 »	0,760	22,2	24,9	25 »	1,150	23.4	27,5
22 »	0,740	22.4	24.9	26 »	1,125	23,5	27,5
23 »	0,810	22.3	26,2	28 »	1,201	23,5	22,8
28 »	0,720	22,2	26,8	23 »	1,210	23,5	20,5
29 »	0,750	22,3	26.7	30 »	1,310	23,2	22,4
30 »	0,781	22,4	27,7	6 août	1,260	23,5	24,0
8 juillet	0,795	22,4	26,8	8 »	1,325	23,5	24,4
10 »	0,805	22,3	27,9	11 »	1,206	23,4	23,4
12 »	0,890	22 4	27,0	18 »	1,324	23,5	26,3

Il résulte clairement de la quantité d'acide carbonique trouvée dans le sol que celle-ci ne saurait exercer aucune influence nuisible sur les anaérobies pathogènes. Si ceux-ci peuvent vivre 50 heures dans une atmosphère d'acide carbonique, ils peuvent certainement supporter la quantité de ce gaz qui se trouve à diverses profondeurs du sol : ceci est tellement vrai que les spores des anaérobies pathogènes

tenues pendant plusieurs mois dans le sol aux profondeurs indiquées ont régulièrement tué les animaux d'expérience auxquels elles ont été inoculées. J'aurai d'ailleurs dans un travail ultérieur à m'occuper plus spécialement du sort des anaérobies pathogènes dans les cadavres enfouis à différentes profondeurs.

b. — Action des sels sur les anaérobies pathogènes du sol

Pour étudier l'action que les éléments chimiques du sol peuvent exercer sur les anaérobies pathogènes, j'ai choisi non seulement les principales substances chimiques que l'on rencontre régulièrement dans chaque terre fumée, mais aussi quelques-unes de celles qui peuvent y pénétrer le plus communément. De fait, on sait que les alcalis n'existent pas à l'état libre dans le sol, et qu'ils s'y trouvent toujours à l'état de combinaisons, spécialement avec l'acide silicique ; j'ai néanmoins étudié l'action des solutions de potasse à 1, 2 et 3 0/0, parce qu'il peut en pénétrer une quantité suffisante dans le sol avec les matières de rebut. Après avoir étudié l'action que l'ammoniaque à l'état gazeux exerce sur les anaérobies pathogènes, il m'a paru inutile d'étudier l'action des solutions de ce gaz.

Parmi les bases alcalines terreuses j'ai choisi la chaux sous forme de lait de chaux; parmi les sulfates, le sulfate d'alumine, le sulfate de potasse, le sulfate de soude et le sulfate de fer; parmi les phosphates, le phosphate de soude et le phosphate de potasse ; parmi les chlorures, le chlorure de sodium; parmi les carbonates, le carbonate de soude; parmi les nitrates, le nitrate de potasse.

Ne sachant pas si ces diverses substances chimiques exerçaient ou non une action nuisible sur les spores des anaérobies pathogènes, je les ai employées en solutions saturées à froid. Je procédais de la manière suivante : je pesais chaque fois 1 gramme de la terre contenant les spores de l'un des anaérobies pathogènes préparée de la façon habituelle, je la mettais dans un tube stérilisé et j'y ajoutais 10 centimètres cubes de la solution que je voulais expérimenter. Après un nombre donné d'heures je recueillais la terre sur un filtre ordinaire de papier et la lavais plusieurs fois à l'eau distillée et stérilisée pour enlever les substances chi-

miques et puis je l'inoculais avec une seringue pourvue d'une grosse aiguille dans le tissu sous-cutané de cobayes. L'expérience pratiquée ainsi se rapprochait le plus possible des conditions naturelles.

J'exposerai d'abord les résultats obtenus par l'inoculation de la terre contenant les spores des bacilles de l'œdème malin après qu'elle avait été soumise à l'action des diverses substances chimiques.

Spores des bacilles de l'œdème malin soumises à l'action des sels

SUBSTANCES CHIMIQUES	DURÉE DE L'ACTION	RÉSULTAT de l'inoculation AUX COBAYES
Potasse 1 0/0	12 heures	+
	14 »	—
Potasse 2 0/0	2 »	+
	3 »	—
Potasse 3 0/0	5 minutes	—
	10 »	—
Lait de chaux	6 heures	+
	8 »	—
Sulfate de soude	30 »	+
	40 »	+
Sulfate de potasse	15 »	+
	16 »	—
Sulfate d'alumine	15 »	+
	20 »	—
Sulfate de fer	10 »	+
	30 »	—
Phosphate de potasse	13 »	+
	14 »	—
Phosphate de soude	10 »	+
	100 »	+
Nitrate de potasse	14 »	+
	30 »	—
Chlorure de sodium	50 »	+
	100 »	+
Carbonate de soude	50 »	+
	100 »	+

Ainsi qu'on le voit par le tableau ci-dessus les substances qui détruisent les spores de l'œdème malin plus ou moins vite sont la potasse, le lait de chaux, le sulfate de potasse, le sulfate d'alumine, le sulfate de fer, le phosphate de potasse, le nitrate de potasse. N'ont aucune action le sulfate de soude après 40 heures, le phosphate de soude après 100 heures, le chlorure de sodium après 100 heures, le carbonate de soude après 100 heures. On peut dire en un mot que *ce sont spécialement les sels à base de potasse*

qui sont capables de détruire les spores des bacilles de l'œdème malin.

J'ai étudié au moyen de la même méthode la résistance des spores tétaniques à l'action des sels.

Les raisons exposées plus haut font comprendre la nécessité de faire une double série d'expériences, savoir : avec de la terre contenant des spores et de la tétanotoxine et avec de la terre contenant uniquement des spores, la tétanotoxine ayant été détruite par la chaleur. J'exposerai d'abord les résultats des inoculations de terre contenant des spores et de la tétanotoxine et ayant été soumises à l'action des diverses substances chimiques.

Spores des bacilles du tétanos avec tétanotoxine soumises à l'action des sels

SUBSTANCES CHIMIQUES	DURÉE DE L'ACTION	RÉSULTAT de l'inoculation AUX COBAYES
Potasse 1 0/0	20 heures	+
	100 »	—
Potasse 2 0/0	20 »	+
	100 »	—
Potasse 3 0/0	20 »	—
	100 »	—
Lait de chaux	24 »	
	100 »	—
Sulfate de soude	20 »	—
	100 »	—
Sulfate de potasse	10 »	—
	100 »	—
Sulfate d'alumine	10 »	+
	100 »	—
Sulfate de fer	10 »	+
	100 »	—
Phosphate de potasse	10 »	+
	100 »	+
Phosphate de soude	10 »	+
	100 »	+
Nitrate de potasse	10 »	+
	100 »	—
Chlorure de sodium	20 »	+
	100 »	+
Carbonate de soude	20 »	—
	100 »	+

Si l'on s'en tient à ces résultats, on ne peut en tirer aucune conclusion à l'égard de l'action que les diverses substances chimiques expérimentées exercent sur les spores du bacille du tétanos. On peut seulement dire que *la potasse*

à 2 0/0 *et à* 3 0/0, *le lait de chaux, le sulfate de potasse, le sulfate d'alumine et le sulfate de fer détruisent et les spores et la tétanotoxine après le nombre d'heures indiqué;* mais pour les autres substances on ne saurait dire si après 100 heures elles ont détruit les spores et pas la tétanotoxine ou *vice versa.* De là, la nécessité de faire une seconde série d'expériences sur les spores tétaniques débarrassées de la tétanotoxine par la chaleur.

Les résultats de cette seconde série d'expériences sont les mêmes que ceux rapportés dans le tableau précédent et l'on peut, pour cela, tirer la conclusion suivante: Les substances chimiques qui ont une action stérilisante sur les spores détruisent aussi la tétanotoxine.

On sait, en effet, par les recherches de Kitasato (1) que la potasse à 0,42 p. 100 détruit la tétanotoxine en 1 heure, la chaux à 0,1 p. 100 aussi en 1 heure et l'ammoniaque à 0,96 p. 100 en 24 heures. Quant à la résistance des spores des bacilles du tétanos, nous pouvons dire qu'elles sont beaucoup plus résistantes à l'action des éléments chimiques du sol que les spores des bacilles de l'œdème malin.

J'exposerai enfin les résultats des inoculations de la terre contenant des spores des bacilles du charbon symptomatique soumise à l'action des solutions des principaux éléments chimiques du sol.

---

(1) *Loc. cit.*

Spores des bacilles du charbon symptomatique soumises à l'action des sels

SUBSTANCES CHIMIQUES	DURÉE DE L'ACTION	RÉSULTAT de l'inoculation AUX COBAYES
Potasse 1 0/0	1 heure	—
	3 heures	—
Potasse 2 0/0	1 heure	—
	4 heures	—
Potasse 3 0/0	5 minutes	—
	1 heure	—
Lait de chaux	6 heures	+
	14 »	—
Sulfate de soude	24 »	+
	20 »	+
Sulfate de potasse	16 »	+
	20 »	—
Sulfate d'alumine	8 »	+
	14 »	—
Sulfate de fer	10 »	+
	40 »	—
Phosphate de potasse	4 »	—
	10 »	—
Phosphate de soude	10 »	+
	20 »	+
Nitrate de potasse	6 »	—
	10 »	—
Chlorure de sodium	10 »	+
	20 »	+
Carbonate de soude	10 »	+
	20 »	+

Ainsi que le montre le tableau ci-dessus, les *spores du bacille du charbon symptomatique sont détruites en un temps relativement court par les solutions de potasse à* 1 *p.* 100, 2 *p.* 100 *et* 3 *p.* 100, *et par le lait de chaux, le sulfate de potasse, le sulfate d'alumine, le phosphate de potasse, le nitrate de potasse.* Les spores du bacille du charbon symptomatique résistent moins bien que les bacilles de l'œdème malin à l'action des éléments chimiques du sol à base de potasse. Ceci confirme les faits que nous avons constatés à l'égard de l'action de la chaleur et de la lumière solaire sur les mêmes spores.

Arloing, Cornevin et Thomas (1) ont expérimenté l'action de diverses substances chimiques sur le virus frais du charbon symptomatique et ont trouvé qu'il n'est

(1) *Loc. cit.*

détruit après 48 heures ni par la potasse à 1/5, ni par l'ammoniaque, ni par le chlorure de sodium, ni par la chaux vive, ni par l'eau de chaux. En ce qui concerne le chlorure de sodium, les résultats auxquels je suis arrivé concordent avec ceux des auteurs français. Les résultats diffèrent à l'égard de la chaux, de l'ammoniaque et de la potasse, mais ces divergences s'expliquent par la diversité des procédés et par des différences dans la quantité employée des désinfectants. Les résultats obtenus avec les solutions saturées de chlorure de sodium sont en concordance avec ceux de de Freytag (1), qui a constaté que cette substance n'exerce, même au bout de six mois, aucune action nuisible sur les spores des bacilles du charbon.

Après avoir vu que quelques-uns des éléments chimiques du sol peuvent exercer une action nuisible sur les spores des anaérobies pathogènes, j'ai voulu voir quelle action ces diverses substances chimiques réunies exercent sur les mêmes spores. Pour cela, j'ai mélangé dans un récipient des quantités égales des dissolutions des sels qui exercent une action nuisible sur les spores et dans un autre récipient des quantités égales des sels qui s'étaient montrés inoffensifs. De chacun de ces mélanges je pris 10 centimètres cubes et en expérimentai l'action d'après la méthode exposée plus haut. Tandis que les spores des bacilles de l'œdème malin et du charbon symptomatique ne résistent pas à l'action du mélange des sels nuisibles, les spores des bacilles du tétanos le supportent pendant quelques heures. Les substances chimiques qui, séparément, ne tuent pas les spores des trois anaérobies pathogènes ne les tuent pas non plus mélangées ensemble.

Ayant rapporté à la fin de chaque paragraphe les conclusions y relatives, je consignerai ici seulement quelques-unes des conclusions principales.

---

(1) De Freytag, Ueber die Einwirkung concentrirter Kochsalzlösungen auf das leben von Bakterien. *Archiv für Hygiene*, XI, p. 60.

Conclusions

1° Les spores des anaérobies pathogènes du sol supportent pendant plusieurs heures des températures élevées, et par conséquent la chaleur, considérée comme agent physique naturel, ne peut certainement pas les détruire en peu de temps. La lumière solaire, au contraire, est capable de les détruire en un temps relativement court, indépendamment de la chaleur.

2° Les spores des anaérobies pathogènes du sol conservent longtemps leur vitalité et leur pouvoir pathogène tant dans les eaux potables communes que dans celles contenant des matières organiques animales ou végétales en putréfaction. Elles résistent, en outre, longtemps à la dessiccation.

3° Les spores des anaérobies pathogènes du sol résistent pendant plusieurs heures à l'action des gaz qui se trouvent régulièrement ou accidentellement dans le sol. Elles sont très résistantes à l'action de l'acide carbonique, moins à celle de l'hydrogène sulfuré, moins encore à celles du gaz ammoniac. Elles offrent une grande résistance à l'action des substances chimiques qui peuvent se trouver dissoutes dans la terre.

4° Les spores les plus résistantes à la chaleur, à la lumière solaire et aux éléments chimiques du sol sont celles du tétanos; en second lieu, celles du bacille de l'œdème malin; en troisième lieu, celles du bacille du charbon symptomatique.

DES ESSAIS DE DÉSINFECTION PAR LES VAPEURS AMMONIACALES

PAR

ED. DE FREUDENREICH

Nous avons récemment rendu compte ici, même (v. ces *Annales*, 1893, p. 298), d'un travail de M. von Rigler dans lequel cet auteur préconisait, pour la désinfection des locaux, l'emploi des vapeurs ammoniacales. Le procédé était des plus simples : il laissait évaporer pendant quelques heures de l'ammoniaque liquide dans de larges vases, 1 kilo par 100 mètres cubes environ. Les résultats étaient merveilleux, car même les spores charbonneuses étaient tuées en peu de temps, en 3 heures quand elles étaient enveloppées dans des linges secs et en 8 heures quand elles étaient enveloppées dans des linges humides. Les meubles et les étoffes ne souffriraient, en outre, aucunement de ce mode de désinfection. J'ai cependant constaté que des vapeurs très concentrées et à doses élevées (en vases clos) attaquent les vernis. Je crois, par conséquent, que ce moyen de désinfection serait difficilement applicable là où il y aurait des tableaux de valeur ou des vernis très délicats ; mais pour la désinfection de hangars, de wagons de marchandises, d'écuries, etc., un procédé de désinfection aussi simple et actif devrait être considéré comme un réel progrès dans la pratique de la désinfection. Aussi ai-je voulu répéter ces expériences, en me promettant de faire une étude complète de ce désinfectant, si le résultat des expériences préliminaires devait m'y encourager. Je regrette de devoir avouer que les expériences instituées à cet égard ont été loin de répondre à mon attente et qu'elles ont même eu des résultats absolument contraires, à certains égards, à ceux annoncés par M. von Rigler, et

cela, sans que je puisse en fournir l'explication, car les expériences de cet auteur paraissent avoir été conduites d'une façon irréprochable. C'est bien aussi pourquoi je les avais analysées pour les lecteurs de ces *Annales*. Cela tient-il à un degré de résistance moindre des microorganismes employés par M. von Rigler? Je ne puis en juger, mais voici les résultats :

I. — Expériences pratiquées dans une chambre

On se rappelle que M. von Rigler avait choisi une chambre d'une contenance de près de 100 mètres cubes, dans laquelle il avait suspendu des fils imprégnés de cultures. La quantité d'ammoniaque liquide mise en expérience avait été de 1 kilo, versée dans des vases plats et larges. Sur cette quantité 450 centimètres cubes s'étaient évaporés en 8 heures. Dans une première expérience, je me suis servi d'une petite chambre cubant 12,5 mètres et j'y plaçai un vase large et plat dans lequel je versai d'abord 1/2 kilo, puis, après quelques heures, une seconde fois 1/2 kilo d'ammoniaque liquide. J'essayai l'action de ces vapeurs sur trois microorganismes ; le *Staph. pyog. aureus*, la spore charbonneuse et le *Tyrothrix tenuis* de Duclaux, doué, comme on le sait, d'une grande vitalité, puisque, d'après M. Duclaux, ses spores résistent pendant 1 minute à 120 degrés. Des morceaux de papier joseph trempés dans des cultures de ces microbes étaient placés dans des boîtes de verre par terre et à 1/2 mètre de hauteur. Le couvercle des boîtes était soulevé de façon à protéger les morceaux de papier contre les poussières de l'air sans empêcher l'accès des vapeurs ammoniacales. Après 1, 3, 6, 9 et 24 heures on ensemençait un morceau de papier dans du bouillon. Quelques morceaux de papier imprégnés de spores charbonneuses avaient aussi, comme dans les expériences de M. Rigler, été enveloppés dans un linge. Ceux-ci furent ensemencés dans le bouillon après 24 heures. On ensemençait, chaque fois, deux ballons avec un morceau de papier de chaque catégorie. Tous les bal-

lons ensemencés ainsi, sauf un, se peuplèrent avec les microorganismes inoculés. Le ballon resté stérile était l'un des deux ballons ensemencés avec le papier d'*aureus* exposé pendant 24 heures aux vapeurs ammoniacales. L'autre ballon, au contraire, donna une culture d'*aureus*. Ainsi, dans cette expérience, les vapeurs ammoniacales se montrèrent absolument impuissantes pour désinfecter les papiers imprégnés de cultures de ces trois microorganismes, et cependant, étant donnée la grandeur du local, j'avais employé une bien plus grande quantité du désinfectant que M. von Rigler. L'ammoniaque liquide employé était en solution de 22,39 p. 100 (liq. amm. caust. concentr. puriss. du poids spéc. de 0,918). Après l'expérience, le titrage accusa 1,24 p. 100, dont 1,21 p. 100 d'ammoniaque libre et 0,03 p. 100 de carbonate d'ammoniaque (action de l'acide carbonique de l'air). Environ 400 centimètres cubes du liquide s'étaient évaporés.

Pensant que la divergence des résultats tenait peut-être à ce que M. von Rigler avait ensemencé ses fils de soie dans des plaques de gélatine, milieu moins favorable à la revivification des germes que le bouillon, je fis encore une plaque avec de la gélatine dans laquelle j'agitai un morceau de papier charbonneux soumis pendant 24 heures aux vapeurs ammoniacales. La plaque donna après quelques jours une immense quantité de colonies de bactéridies charbonneuses.

Une seconde expérience fut faite dans une autre chambre de 50 mètres cubes. Bien que M. von Rigler eût dit que cela n'était pas nécessaire, je bouchai cette fois-ci le trou de la serrure et les fentes avec du coton et des linges ; la fenêtre était une simple lucarne et fermait bien, en sorte qu'il ne pouvait y avoir de perte appréciable de gaz. En outre, j'employai dans cette expérience un litre (un peu moins d'un kilo) d'un liquide encore plus concentré, du poids spécifique de 0,890, contenant 31,75 p. 100 d'ammoniaque. C'est une des solutions les plus concentrées que l'on puisse obtenir dans le commerce. Aux spores charbonneuses, au bacille du typhus et au staphylocoque doré je joignis encore le microcoque du lait filant décrit par M. Guillebeau ici même. (V. ces *Annales*, 1892, p. 225.)

L'ensemencement des papiers exposés aux vapeurs ammoniacales qui avaient été séchés préalablement pendant quelques heures à 25°-30° fut pratiqué après 1, 3, 6, 9 et 24 heures.

Le résultat fut tout aussi nul que dans l'expérience précédente. Tous les ensemencements pratiqués chaque fois dans deux ballons de bouillon donnèrent des résultats positifs et aucun des 4 microbes employés ne fut tué même après 24 heures. La quantité de liquide évaporée a été dans cette expérience de 400 centimètres cubes environ. Pendant la première partie de l'expérience surtout, l'odeur des vapeurs était très pénétrante et un séjour un peu prolongé dans la chambre de désinfection eût été impossible. Cependant, ainsi que M. von Rigler l'a remarqué, on peut sans peine y pénétrer pour chercher les papiers ou les fils de soie destinés à l'ensemencement.

Je continuai les expériences avec des doses considérablement plus fortes d'ammoniaque; mais, comme cela eût présenté quelques inconvénients de laisser évaporer dans une chambre d'une maison habitée des 10 et 20 litres d'ammoniaque, je me servis d'une caisse cubant 1/2 mètre carré et fermant parfaitement. Je fis deux expériences, l'une avec 100 centimètres cubes et la seconde avec 200 centimètres cubes d'ammoniaque liquide titrant, comme dans l'expérience précédente, 31,75 p. 100. Les quantités employées correspondaient à 200 et 400 centimètres cubes par mètre cube, soit à 20 et 40 litres pour une pièce de 100 mètres cubes. Les microorganismes employés dans ces expériences furent le bacille typhique, le staphylocoque doré, le micrococcus du lait filant, et un microcoque non encore décrit qui a la propriété de cailler le lait comme les ferments lactiques, mais en le rendant en même temps très amer. Les papiers imprégnés du bouillon de culture du microbe du lait filant furent ensemencés dans du lait, l'état visqueux qu'acquiert le lait fournissant dans la suite la preuve de la pureté de la culture; les autres papiers furent, après l'exposition aux vapeurs ammoniacales, ensemencés chaque fois dans 2 ballons; en cas de résultat positif, la pureté de la culture était contrôlée au microscope.

Le temps d'exposition fut, dans la première de ces expériences, de 3, 6, 8 et 24 heures. Aucun de ces organismes ne fut tué. L'évaporation fut de 42 centimètres cubes sur les 100 qui avaient été versés dans un vase plat. Celui-ci était placé au fond de la caisse ; les papiers se trouvaient sur un tabouret.

Dans la seconde expérience (200 centimètres cubes), le temps d'exposition fut de 8, 24 et 48 heures. Il est à noter que les papiers imprégnés de la culture du lait filant étaient les mêmes que ceux qui avaient servi dans l'expérience précédente ; ils avaient donc déjà subi pendant 24 heures l'action des vapeurs de 100 centimètres cubes d'ammoniaque liquide (31,75 p. 100) dans un espace de 1/2 mètre cube. Le staphylocoque doré, le micrococque du lait filant et celui du lait amer donnèrent des cultures dans tous les ballons ensemencés, même après 48 heures d'exposition aux vapeurs ammoniacales. Le bacille typhique résista facilement 8 heures. Après 24 heures il y eut un retard de croissance ; l'un des ballons ensemencés avec les papiers ne se troubla que le surlendemain de l'ensemencement, le second plus tard encore. Après 48 heures, les ensemencements restèrent stériles. Dans cette expérience 100 centimètres cubes s'étaient évaporés.

Il résulterait de ces différentes expériences que même une dose de 400 centimètres cubes, par mètre cube, soit 40 litres pour une pièce de 100 mètres cubes est insuffisante pour assurer la désinfection ; après 48 heures celle-ci n'atteindrait encore que les microbes les moins résistants.

II. — Expériences en vases clos

Pendant que je faisais les premières expériences dans des chambres de 12 1/2 et 100 mètres cubes, j'avais pratiqué un certain nombre d'expériences en vases clos avec l'ammoniaque liquide dont je m'étais servi au début et qui titrait 22,39 p. 100 et avait un poids spécifique de 0,918. Je pouvais ainsi employer des doses proportionnellement plus fortes du désinfectant et arriver à fixer la quantité nécessaire pour tuer les microbes mis en expérience.

Dans des ballons d'un litre, fermés par un bouchon de caoutchouc auquel était suspendu par un fil un petit panier de toile métallique à mailles assez larges, je versai, dans une première série d'expérience ayant pour objet les spores charbonneuses, 5 et 10 centimètres cubes d'ammoniaque liquide et, dans une seconde série d'expériences ayant le bacille typhique et le staphylocoque doré pour objet, 2 centimètres cubes, 1/10 et 1/20 de centimètre cube seulement d'ammoniaque, après avoir placé dans le petit panier les morceaux de papier imprégnés de cultures ou d'une émulsion de spores charbonneuses. A des intervalles divers, je retirais du panier 2 petits papiers avec une pincette stérilisée et je les ensemençais dans 2 ballons de bouillon.

Les doses d'ammoniaque employées dans ces expériences sont donc considérablement plus élevées que dans les précédentes, du moins celles de 2,50 et 10 centimètres cubes. Elles correspondent à 2,5 et 10 litres par mètre cube, au lieu de la dose de 10 grammes par mètre cube employée par M. von Rigler. Pour une pièce de 100 mètres cubes ces doses reviendraient à 200, 500 et 1,000 litres.

Les papiers étaient mis en expérience tantôt après dessiccation préalable, tantôt encore humides, immédiatement après avoir été plongés au sein des cultures, dans l'idée qu'ainsi l'action de l'ammoniaque serait plus caustique. Les ballons furent tenus en partie à 25°, en partie à 37°. Les tableaux suivants donnent les résultats de ces diverses expériences. Le signe + indique que les papiers ensemencés ont donné une culture ; le signe — indique l'absence de croissance.

a. Spores charbonneuses.

1° Ballon de 1 litre. 5 centimètres cubes d'ammoniaque liquide. Papiers secs. Température : 25 degrés.

Après	3	heures :	—
»	8	»	+
»	24	»	+
»	48	»	rien dans l'un des deux ballons; dans l'autre croissance faible au début, belle plus tard.

Donc, même après 48 heures, la stérilisation n'était pas

sûre dans cette expérience. Le résultat négatif de l'ensemencement après 3 heures (on n'avait dans ce cas ensemencé qu'un seul ballon) est manifestement fortuit. Peut-être le papier ne s'était-il pas bien imprégné de spores.

2° Ballon de 1 litre. 5 centimètres cubes d'ammoniaque liquide. Papiers humides. Température : 25 degrés.

Après	2 h. 1/2 :	+	
»	5 heures :	+	
»	8 »	+	
»	24 »	+	(1) au début croissance faible.
»	48 »	+	

L'influence de l'humidité paraît ici être nulle, vu que les résultats de cette expérience ne diffèrent pas de ceux de la précédente, sauf qu'ici les spores n'étaient jamais tuées même après 48 heures.

3° Ballon de 1 litre. 10 centimètres cubes d'ammoniaque liquide. Papiers secs. Température : 25 degrés.

Après	3 heures :	+
»	6 »	+
»	8 »	+
»	24 »	+

4° Ballon de 1 litre. 10 centimètres cubes d'ammoniaque liquide. Papiers humides. Température : 25 degrés.

Après	3 heures :	+	
»	6 »	+	
»	8 »	+	retard d'un jour dans l'un des ballons.
»	24 »	+	
»	48 »	—	

5° (2) Ballon de 1 litre. 10 centimètres cubes d'ammoniaque liquide. Papiers secs. Température : 37 degrés.

---

(1) Les papiers étant à ce moment secs, on les humecte avec quelques gouttes d'eau stérilisée.

(2) Les papiers employés dans les expériences 5 et 6 avaient déjà été exposés aux vapeurs ammoniacales, pendant 24 heures, dans une chambre, mais à des doses plus faibles (1re expérience).

Après 3 heures : 1.
» 6 » Infection fortuite du bouillon (1) par un *bacillus subtilis.*
» 24 » —

6° Même expérience que n° 5, mais à la température de la chambre.

Après 24 heures : —
» 48 » —

Il résulte de ce qui précède que, même à ces doses exagérées, doses 500 et 1,000 fois plus fortes que celles indiquées par M. von Rigler, les spores charbonneuses résistent toujours 8 et, le plus souvent, 24 heures. Avec 5 centimètres cubes d'ammoniaque liquide elles résistent même 48 heures et peut-être plus, les expériences n'ayant pas été prolongées au-delà de ce terme. Avec 10 centimètres cubes elles résistent aussi 24 heures, sauf quand, comme dans les expériences 5 et 6, elles ont déjà été exposées à l'action des vapeurs ammoniacales de 1 litre d'ammoniaque liquide dans une chambre d'environ 12 mètres cubes. Il est à remarquer, en outre, que, dans l'expérience 5, l'action des vapeurs ammoniacales a été renforcée par la température de 37 degrés.

Les spores employées n'étaient cependant pas particulièrement résistantes. Elles supportaient l'action de l'eau bouillante pendant 1 et 2 minutes, mais non pendant 5 minutes.

b. Bacille typhique et staphylocoque doré.

Avec ces microorganismes moins résistants, les résultats furent meilleurs.

1° Ballon de 1 litre. 10 centimètres cubes d'ammoniaque liquide. Papiers secs.

Bacille typhique.		Staphylocoque doré.	
Après 1 heure :	—	Après 1 heure :	—
» 2 heures :	—	» 2 heures :	—
» 3 »	—	» 3 »	—
» 8 »	—	» 8 »	—
» 24 »	—	» 24 »	—

(1) N'ayant pas eu d'animal d'expérience sous la main à ce moment, il ne me fut pas possible de constater par une inoculation si le liquide ensemencé contenait aussi des bactéridies charbonneuses.

Ici déjà après une heure le bacille typhique et le staphylocoque doré étaient tués.

2° Ballon de 1 litre. 2 centimètres cubes d'ammoniaque liquide. Papiers humides.

Bacille typhique.		Staphylocoque doré.	
Après 1 heure :	—	Après 3 heures :	—
» 4 heures :	—	» 6 »	—
» 6 »	—	» 24 »	—
» 24 »	—		

3° Ballon de 1 litre. 2 centimètres cubes d'ammoniaque liquide. Papiers secs.

Bacille typhique.		Staphylocoque doré.	
Après 3 heures :	—	Après 3 heures :	—
» 6 »	—	» 6 »	—
» 24 »	—	» 24 »	—

Dans une autre expérience, toutefois, le staphylocoque fut trouvé vivant encore après 3 et 6 heures.

A la dose de 10 centimètres cubes par litre, les vapeurs ammoniacales tuent donc encore rapidement le bacille typhique et le staphylocoque doré. Une dose de 2 centimètres cubes tue le bacille typhique, mais pas toujours le staphylocoque, qui, exceptionnellement, a résisté 6 heures. De telles doses seraient, toutefois, inapplicables dans la pratique, puisqu'elles correspondraient à 2 et 10 litres par mètre cube. Encore ne seraient-elles pas suffisantes pour tuer les microbes résistants doués de spores comme la bactéridie charbonneuse.

Nous avons vu plus haut que, dans une caisse de un demi-mètre cube, le bacille typhique et le staphylocoque doré résistaient à la dose de 200 centimètres cubes d'ammoniaque, soit 400 centimètres cubes par mètre cube.

En vase clos, des doses de 1/10 et de 1/20 de centimètre cube, correspondant à 50 et 100 centimètres cubes par mètre cube se sont montrées douées d'une certaine efficacité.

Ballon de 1 litre. 1/10 de centimètre cube d'ammoniaque liquide. Papiers humides.

Staphylocoque doré.

Après	1 heure	: +	
»	3 heures	: +	avec retard de croissance dans un ballon.
»	8	»	—
»	24	»	—

Ballon de 1 litre. 1/20 de centimètre cube d'ammoniaque liquide.

Bacille typhique.				Staphylocoque doré.			
Après	6 heures	: +		Après	6 heures	: +	
»	8	»	+ dans 1 seul ballon sur deux.	»	8	»	+
»	24	»	—	»	24	»	+
»	48	»	+ dans 1 ballon ensemencé av. plusieurs papiers.	»	48	»	+ avec retard de croissance dans un ballon.

Bien que, dans ces deux dernières expériences, l'ammoniaque liquide ait titré 22,39 p. 100 au lieu de 31,75 p. 100, comme dans les expériences avec la caisse, des doses moindres, savoir : 50 et 100 centimètres cubes par mètre cube, se sont montrées efficaces jusqu'à un certain degré, tandis que dans la caisse 200 et 400 centimètres cubes par mètre cube n'avaient pas d'action désinfectante. Cela tient évidemment à ce que dans des ballons de petite capacité les papiers se trouvent plus près des vapeurs développées, et aussi au fait qu'aucune déperdition n'est possible. Dans la pratique, évidemment, il faudrait se diriger d'après les résultats obtenus avec la caisse, qui réalise mieux les conditions que l'on sera appelé à rencontrer dans la désinfection des locaux. Or, si l'on tient compte des résultats exposés plus haut, il est manifeste que les vapeurs ammoniacales ne pourront guère être utilisées comme désinfectant ainsi que le faisaient espérer les expériences de M. von Rigler, attendu qu'il faudrait employer des quantités par trop encombrantes d'ammoniaque liquide.

REVUES ET ANALYSES[1]

Prof.-Dr E. TAVEL et Dr OTTO LANZ. — **Sur l'étiologie de la péritonite** (*Mittheilungen aus kliniken und medicinischen Instituten der Schweiz*, 1re série, fasc. 1).

Dans ce livre intéressant, les auteurs résument les résultats de leurs laborieuses recherches sur 52 cas de péritonite. A l'étude clinique détaillée de chaque cas ils ont joint une analyse bactériologique de l'exsudat faite dans des conditions irréprochables, vu que les ensemencements ont toujours pu être pratiqués pendant la vie du malade, au moment de l'opération. Parmi les bactéries qu'ils ont trouvées il n'y en a donc point dont la présence puisse être considérée comme un phénomène consécutif à la mort. Les auteurs ont classé les péritonites qu'ils ont étudiées d'après leur point de départ, qui peut être l'intestin (estomac, duodénum, intestin grêle, cæcum et rectum), la vésicule biliaire et le foie, les reins et la vessie, les organes génitaux de la femme, une opération ou une infection hématogène. Ils divisent, en outre, les péritonites en péritonites dues à une cause chimique et en péritonites bactériennes.

Différents facteurs peuvent jouer un rôle dans la production de la péritonite. Dans la péritonite sans perforation, ces facteurs peuvent être :

1° Croissance et multiplication des bactéries d'un organe voisin dans le péritoine (péritonite puerpérale par exemple). Ici les bactéries se propagent par les voies lymphatiques ;

2° Passage de bactéries d'un organe voisin dans le péritoine. Les auteurs entendent par là le transfert, actif ou passif, de bactéries à travers des parois normales, mais sans qu'il y ait en même temps multiplication. La question du passage des bactéries à travers les parois normales de l'intestin est encore contestée, mais MM. Tavel et Lanz inclinent à croire que dans un intestin normal il ne se produira pas à moins de troubles circulatoires ;

3° Le passage de substances chimiques d'un organe voisin dans le péritoine.

Dans la péritonite par perforation on a :

4° L'irruption (non plus un passage progressif) de substances chimiques, parmi lesquelles aussi les substances produites par les bactéries ;

---

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

5° L'irruption de bactéries ;

6° L'irruption de parties solides du contenu intestinal.

Mais les auteurs arrivent à la conclusion que, expérimentalement, on n'arrive pas à produire une péritonite au moyen d'un seul de ces facteurs pris isolément. Au moyen d'huile de croton ou de nitrate d'argent, on peut provoquer, il est vrai, l'inflammation du péritoine, mais ce sont là des substances chimiques qui cliniquement ne se rencontrent pas dans la péritonite ; les produits de culture bactériens, les ferments et les gaz intestinaux, par contre, ne sont, d'après les expériences des auteurs, jamais en mesure de produire une péritonite. Les facteurs sus-indiqués contribuent donc à la péritonite ; mais, pour qu'ils déploient leur action, il faut une cause prédisposante. Or, en quoi consiste cette prédisposition ? Ici, les auteurs arrivent, en ce qui concerne la péritonite bactérienne, à une conclusion qui nous paraît être le point le plus important de leurs recherches et qui provoquera, croyons-nous, une sorte de révolution dans les idées généralement reçues. Ils arrivent, en effet, à ce résultat que les bactéries ne peuvent se développer sur le péritoine et produire les symptômes de la péritonite bactérienne que s'il y a déjà péritonite, attendu que la force de résorption du péritoine normal est assez grande pour se débarrasser des microbes qui y parviennent. Ils trouvent un appui pour cette conclusion dans le résultat d'une expérience du Dr Walthard faite au cours de recherches poursuivant un autre objet. Cet expérimentateur avait, en effet, constaté qu'un utérus isolé pour des ligatures était, au cours d'une péritonite, non seulement resté à l'abri de toute inflammation, ce qui est assez naturel, vu qu'un corps privé de vascularisation est incapable de réagir, mais encore qu'aucunes bactéries ne s'étaient développées à sa surface. La séreuse de la partie ligaturée était restée libre de toute végétation bactérienne. Même une lésion de l'épithélium de cette partie ligaturée (action de l'air sec, de solutions de sublimé, etc.) n'eut pas pour effet d'ouvrir une voie à l'infection bactérienne. Il en résulterait que la prédisposition ne consiste pas seulement dans une lésion, mais dans l'*inflammation* provoquée par cette lésion. C'est pourquoi les auteurs résument leur pensée en disant que la péritonite bactérienne ne se développe que là où il y a déjà une péritonite.

Cette manière de voir heurtera, nous l'avons dit, des idées admises, mais MM. Tavel et Lanz nous semblent être absolument dans le vrai. On s'est, depuis quelques années, habitué à tout mettre sur le compte des microbes. Il est juste qu'il existe un certain nombre de maladies franchement bactériennes, nous entendons par là causées directement par un microbe. Tel est le cas pour la bactéridie charbonneuse, le gonocoque, etc. En effet, introduisez, sans lésions, des bacilles charbonneux dans l'économie, ou le gonocoque dans un urèthre sain, et vous verrez un charbon typique

ou une uréthrite spécifique se développer. Or qu'est-il advenu dans la suite ? Partout où l'on a trouvé un microbe, on l'a accusé d'être la cause de la maladie. Ainsi pour la péritonite et la pneumonie. Et cependant, avec les microbes trouvés dans la péritonite, on ne fait pas de péritonite, et celui de la pneumonie se trouve souvent dans la bouche des personnes absolument bien portantes. Comment expliquer alors qu'ils n'exercent pas leurs fonctions en faisant la pneumonie ou la péritonite. On s'en tire en disant que leur virulence est modifiée. Eh bien ! qu'on inocule les bacilles pneumoniques, trouvés dans la bouche de gens bien portants, à des lapins, et l'on verra ce qu'il en est de cette prétendue atténuation de virulence. Bien plus rationnelle nous semble l'explication qui découle des théories de MM. Tavel et Lanz et qui consiste, à tout prendre, à donner une part prépondérante au terrain. C'est celui-ci qui peut-être, encore plus que le microbe, joue le rôle étiologique important. Aussi croyons-nous que cette manière de voir s'imposera et qu'elle s'appliquera non seulement à la péritonite, mais encore à la pneumonie, au choléra, au typhus, peut-être même à la diphtérie et à d'autres maladies encore. La cause première pourra être par exemple un refroidissement entraînant une inflammation sur laquelle se grefferont les bactéries. Que l'on n'aille pas croire toutefois qu'en refusant — dans certains cas — aux bactéries le rôle de cause première on puisse les traiter pour cela de quantité négligeable. Les bactéries resteront malgré cela un des facteurs essentiels de l'évolution ultérieure de la maladie. Si les bactéries s'implantent dans les tissus, elles entretiennent l'inflammation et rendent à l'organisme qu'elles empoisonnent par leurs toxines la défense toujours plus difficile. Le pronostic d'une péritonite bactérienne, c'est-à-dire d'une péritonite accompagnée de bactéries, sera par conséquent toujours plus défavorable et la suppression de ces dernières sera toujours le but à atteindre ; aussi les résultats magnifiques dus à l'observation minutieuse des règles de l'asepsie et de l'antisepsie n'ont-ils rien à craindre de l'acceptation de théories qui ont seulement en vue de préciser un peu plus rigoureusement qu'on ne l'a fait jusqu'ici le rôle des bactéries dans l'étiologie des maladies.

La partie de l'ouvrage de MM. Tavel et Lanz consacrée à la description des espèces bactériennes trouvées dans les péritonites à bactéries est très instructive. Ils établissent d'abord que la péritonite bactérienne est généralement non pas une mono-infection mais une poly-infection. Dans 28 cas de péritonite circonscrite ils ont trouvé 5 fois seulement une seule espèce bactérienne ; dans les 18 autres cas, il y avait de 2-9 espèces différentes. Dans les péritonites diffuses ils ne trouvèrent que 4 fois une seule espèce ; dans les 11 autres cas il y en avait 2 ou plusieurs espèces. Dans les cas où l'on ne trouve qu'une seule espèce, celle-ci peut être très diffé-

rente. Les auteurs ont trouvé le *Staph. pyog. citreus*, le streptocoque, le microbe de l'actynomicose, le *Bact. lactis aerogenes* et le *Bac. coli immobilis*. Lorsqu'on trouve différentes espèces, il est difficile de dire quelle est l'espèce à laquelle revient le rôle le plus important. En effet, si l'on emploie les procédés de culture, on obtient souvent le *Bact. coli commune* seul, bien qu'on trouve dans les préparations d'autres espèces, souvent même en plus grand nombre, mais qui se cultivent moins facilement que le *Bac. coli*. Il serait illogique d'attribuer dans ces cas le rôle étiologique à ce dernier, à cause de sa prépondérance dans les cultures. Il semblerait donc, d'après ces résultats, que le *Bac. coli* est loin d'avoir pour la péritonite l'importance qui lui a été attribüée par plusieurs auteurs qui ont évidemment basé leurs conclusions sur le résultat de leurs cultures. Voici du reste dans quel ordre les auteurs classent les bactéries qu'ils ont trouvées.

En premier lieu le streptocoque. On le rencontre sous forme de grand et de petit diplocoque, comme aussi sous la forme classique du streptocoque en chaînettes. Ils nomment les deux premières variétés *Diplococcus intestinalis major* et *Diplococcus intestinalis minor*.

Un *micrococcus* souvent trouvé dans la bouche est considéré par Roux, Yersin et Martin comme la cause d'un grand nombre d'angines. MM. Tavel et Lanz le désignent sous le nom de *Coccus conglomeratus*.

Le *Diplococcus lanceolatus* (pneumocoque).

Les *Staphylocoques ;* mais ils n'ont rencontré ceux-ci que rarement.

Parmi les bacilles ils ont rencontré :

Un bacille ressemblant à celui de l'actinomycose. Il ne fut pas possible de le cultiver (1 cas) ;

Un bacille ressemblant à celui de la diphtérie (3 cas). Les auteurs le considèrent comme identique avec le pseudo-bacille de la diphtérie de Lœffler ;

Un bacille ressemblant à celui du tétanos ;

Un bacille ressemblant à celui de la morve ;

Le bacille pyocyanique ;

Le *Bacillus pyogenes fœtidus* (Burci) ;

Un bacille auquel ils donnent le nom de *Bacillus pyogenes fœtidus liquefaciens ;*

Le *Proteus vulgaris ;*

Le *Bacillus coli*.

Les auteurs font une étude spéciale de ce dernier. Sur 30 variétés qu'ils ont cultivées, 17 étaient mobiles, 13 immobiles. Les variétés mobiles se distinguent par la forme et le nombre de leur flagella. La coagulation du lait n'est pas une fonction constante ; l'action fermentative sur le sucre de lait et de raisin est plus constante,

elle n'a fait défaut que 2 fois. La réaction de l'indol et le caractère pathogène sont très inconstants, de même que les dimensions. La non-liquéfaction de la gélatine et le défaut de coloration par la méthode de Gram sont seuls caractéristiques. On voit, par cela, combien de variétés diverses se cachent sous le nom de *Bacillus coli*. Une série de phototypies pour la plupart excellentes (8 planches) termine cet ouvrage.

Ajoutons que le travail de MM. Tavel et Lanz est le premier numéro d'un nouveau recueil publié par l'éditeur Carl Sallmann, à Bâle, sous le titre indiqué en tête de cet article (Communications des cliniques et instituts médicaux de la Suisse), recueil auquel la collaboration des sommités médicales de la Suisse est déjà acquise. Le nom de l'éditeur, bien connu par le soin qu'il apporte à toutes ses publications, nous est garant que les fascicules suivants ne le cèderont en rien au premier.

E. F.

Dr Ad. Heider. — **De l'action des désinfectants à des températures plus élevées** (*Archiv. für Hygiene,* XV, p. 341).

Les travaux de Koch, Henle, Mocht et Behring nous ont déjà appris qu'une élévation de la température augmente beaucoup l'action microbicide des désinfectants. L'auteur, dans un travail soigneux, a repris ces expériences d'une façon très complète, en cherchant surtout à obtenir des résultats applicables dans la pratique de la désinfection. Les microbes soumis à ces expériences étaient la spore charbonneuse et, dans quelques cas, le staphylocoque doré. Des suspensions de spores dans de l'eau ou des cultures dans du bouillon étaient mélangées avec des solutions du désinfectant dans les proportions voulues pour obtenir une concentration donnée, et tenues à diverses températures. Après une durée variable, quelques anses de platine du mélange étaient ensemencées dans du bouillon en prenant les précautions nécessaires pour que la petite quantité de désinfectant ensemencée en même temps ne pût nuire au développement des bactéries (ensemencement en plusieurs dilutions ou dans de grands ballons contenant 50 cmc. de bouillon). Ces expériences démontrent qu'une température élevée exalte énormément l'action des désinfectants. Ainsi l'acide phénique à 5 p. 100, dans lequel les spores employées par l'auteur restaient vivantes à la température de la chambre pendant 30-40 jours, étaient tuées à 40° en 4 heures, à 55° en 2 heures, à 75° en trois minutes. La soude caustique à 8 p. 100, que les mêmes spores supportaient pendant 10 heures, les tuait en une heure à 55° et en 10 et même en 2 minutes à 75°. Nous ne pouvons ici entrer dans le détail de ces expériences pour lequel nous renvoyons le lecteur au travail original. Disons seulement que l'auteur recommande pour la pratique l'em-

ploi des solutions désinfectantes aussi chaudes que possible, ainsi la soude à 2-5 p. 100, par exemple, pour les planchers, les écuries, les wagons, les déjections, etc. Pour le linge, il recommande le lysol bouillant 1-3 p. 100, pendant 1/2 heure. Ce dernier nettoie également très bien. E. F.

Dr Alfonso Montefusco. — **De l'action des basses températures sur la virulence des spirilles du Choléra** (*Annali dell'Istituto d'igiene sperimentale*, III, p. 31).

Koch et Finkelnburg ont déjà montré que les bacilles cholériques, surtout les cultures datant de cas récents, peuvent supporter de basses températures sans perdre leur vitalité (—5 à —10°). L'auteur du présent Mémoire a spécialement eu en vue de rechercher si le froid n'atteindrait pas au moins la virulence, tout en laissant intacte la vitalité. Partant d'une culture cholérique de Massaua, dont la virulence lui était connue (5 cmc. de culture de bouillon inoculés par la voie stomacale suffisaient pour tuer un cobaye de 4-500 grammes en 12-20 heures), M. Montefusco la soumettait à de basses températures et l'inoculait ensuite aux animaux. Voici les résultats auxquels aboutirent ses expériences :

1° La température de — 10° à — 15° détruit en une demi-heure la virulence des spirilles du choléra, tandis qu'une température de 0° à 5° l'atténue seulement ;

2° Les cultures cholériques qui ont perdu leur virulence par l'action du froid la récupèrent quand elles ont été réensemencées et tenues à 37° ;

3° Les basses températures n'ont aucune action sur les produits de culture des spirilles du choléra ;

4° Les cobayes inoculés par la voie stomacale avec des cultures soumises à la congélation sont rendus réfractaires, au moins temporairement, à l'infection cholérique et à l'action toxique des cultures cholériques. E. F.

Ruete et Henoch. — **Sur les cultures pures du vaccin et sur la toxine « vaccinine »** (*Deutsche med. Wochenschrift*, 1893, n° 23).

Ces auteurs ont trouvé dans les pustules vaccinales du veau un micrococque qu'ils ont cultivé sur agar, dans le bouillon et dans les œufs. Sur gélatine, ainsi que sur sérum humain, de veau et de porc, les cultures ne croissent pas. Ces micrococques se décolorent d'après la méthode de Gram et sont tués par une température de 60 degrés. Sur agar ils forment un gazon blanc comme du lait, épais, qui plus tard devient un peu jaunâtre. Sur plaques d'agar les

colonies sont blanches, rondes, à bords sinueux, à noyau foncé et portent des stries en éventail. Le bouillon est troublé sans qu'il se forme de pellicule. Les cobayes ne sont pas sensibles à leur action, non plus qu'à celle de la vaccine. Cependant on retrouve les coccus quelques jours après dans le sang.

Inoculés à des porcs, ces coccus ne donnèrent lieu que chez deux animaux sur dix à la production d'une pustule analogue à celle du vaccin. Il est vrai que sur les huit animaux restants, sept se montrèrent aussi réfractaires à l'inoculation de vaccin véritable. Les auteurs semblent avoir mieux réussi sur le veau et sur l'homme. Voici ce qu'ils disent à cet égard.

« Nous fîmes d'une culture sur agar paraissant pure de nouvelles cultures, d'abord sur agar additionné de sérum humain, puis sur agar additionné de sérum de veau, inoculé de l'agar au sérum humain. Une troisième culture fut cultivée sur agar au sérum de veau, et une quatrième, prise d'une huitième génération sur œuf, sur agar au sérum de veau. »

« Avec ces quatre cultures, on inocula, le 15 février, le veau n° V à différents endroits du corps. Après le 5e jour, des papules et des vésicules se développèrent à l'endroit où l'on avait inoculé la culture sur agar au sérum de veau. Cependant, elles se développèrent mal. De meilleures vésicules et papules furent produites par la culture ensemencée de l'agar au sérum humain sur l'agar au sérum de veau. Le septième jour, on les râcla et la lymphe obtenue de ce veau fut cultivée avec de la glycérine et inoculée, d'une part, au Dr Henoch et, d'autre part, au veau n° VI. »

« Chez le Dr Henoch, les piqûres se développèrent comme elles le font souvent chez les personnes revaccinées. Il se produisit des papules un peu humides qui occasionnèrent un fort prurit. A partir du troisième jour, douleurs lancinantes dans la partie supérieure du bras et dans l'aisselle. Il ne se forma pas de pustule. Les cultures du sang donnèrent un résultat positif. Les papules avaient, le cinquième jour, des bords enflammés, elles séchèrent lentement et encore après quatre semaines l'endroit des piqûres était un peu surélevé et se desquamait. Une inoculation de vaccine faite à titre de contrôle le 6 avril resta sans résultat. »

« Chez le veau, il s'était développé après six fois 24 heures une vésicule sur le scrotum et sur une des côtes. Leur contenu fut râclé, trituré avec de la glycérine et inoculé six heures plus tard, par le Dr Voigt, au veau VII par dix-neuf stries. Toutes les dix-neuf stries donnèrent, le 12 mars, des vésicules ; quelques-unes étaient un peu sèches. Le contenu de dix-sept de ces vésicules fut enlevé et trituré avec de la glycérine. Les deux vésicules que l'on avait laissées séchèrent peu à peu sans formation de pus. Une vaccination de contrôle pratiquée sur ce veau donna un résultat négatif. »

« Le 15 mars, on vaccina le veau VIII avec la lymphe recueillie



sur le veau VII. Il se produisit de belles vésicules vaccinales, et M. Voigt n'hésita pas à employer la lymphe de ces dernières dans son institut vaccinal ; il le fit, en général, avec le meilleur succès. »

Les auteurs ont aussi cherché à extraire une toxine des cultures de bouillon, la « vaccinine ». Il semblerait que son adjonction aux cultures pures du coccus augmenterait parfois l'action de ces dernières. E. F.

Dr H. Weigmann. — Sur le « lait savonneux » et l'origine des bactéries dans le lait (*Milchzeitung*, 1893, n° 35).

Il existe une altération du lait pour laquelle M. Herz, directeur de la station laitière de Memmingen, a introduit l'expression de « lait savonneux ». Au moment de la traite, ce lait n'est pas modifié dans son goût, mais après 24 heures et plus il prend une odeur pénétrante et un goût désagréable comparable à un goût de savon. Le lait ne se caille pas dans la suite et, quand on l'agite, il se forme une mousse abondante. On en fait difficilement de bon beurre.

Récemment M. Weigmann, à Kiel, bien connu par ses nombreux travaux sur le lait et ses microbes, eut l'occasion d'étudier un lait de ce genre qui avait été fourni à l'école de laiterie de Kiel. Les fromages maigres fabriqués avec ce lait avaient aussi un goût désagréable. Le lait des différentes vaches de l'écurie ayant fourni ce lait défectueux fut alors examiné bactériologiquement ; on trouva dans chaque échantillon cinq bactéries en nombres divers, dont l'une fut trouvée capable de produire expérimentalement cette maladie du lait. Ce sont de minces bâtonnets, à bouts arrondis, qui forment sur gélatine des colonies blanches, visqueuses, de 2 à 3 millimètres de diamètre, dans le milieu desquelles un pigment jaune se montre d'abord sous forme de point, et qui recouvre plus tard toute la colonie. Inoculé dans du lait, ce bacille n'y produit, au début, pas d'altération visible ; au bout de quelques jours, le lait devient visqueux ; mais, avant déjà, le goût en devient savonneux et absolument semblable à celui du lait en question. Les autres bactéries appartenaient aux espèces peptonisantes ; il n'y avait presque pas de bactéries de la fermentation lactique, ce qui explique que ce lait abandonné à lui-même ne s'acidifiait pas. M. Weigmann chercha alors d'où pouvaient provenir ces bactéries ; il les trouva en très grand nombre dans la paille servant de litière aux vaches. Cette paille était en maints endroits humide et décolorée. Elle contenait, en outre, également les quatre autres espèces microbiennes trouvées dans le lait ; et, à part celle-ci, aucune autre. Ce fait est très significatif et montre, un point sur lequel M. Weigmann insiste avec raison, le danger

qu'il y a de changer la litière des vaches et de leur donner leur nourriture au moment de la traite. Il est évident qu'en le faisant l'air se charge de microorganismes qui tombent ensuite dans le lait, et quand, comme dans ce cas, la paille ou le fourrage contiennent des microorganismes nuisibles, on comprend la persistance de ces maladies du lait. M. Weigmann ayant fait remplacer la paille dont on se servait, le lait redevint peu à peu normal.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Juillet* 1893

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 27 du 2 Juillet au 8 Juillet 1893 . .	6.670	650	23°,3	8mm,8	Var.	9km,5	258	109
N° 28 » 9 » » 15 » » . .	8.250	750	18 ,2	38 ,2	SW	43 ,8	202	33
N° 29 » 16 » » 22 » » . .	6.160	2.500	18 ,2	13 ,9	SW	15 ,0	188	88
N° 30 » 23 » » 29 » » . .	5.680	1.650	17 ,9	1 ,4	W.	12 ,0	169	68
» » » » » . .	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	6.690	1.385	19°,4	42mm,3	W	12km,5	817	298
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Juillet 1893. Bactéries = 4.330 Moisissures = 4.330 Température = 17°,6

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Juillet 1893. Bactéries = 245 Moisissures = 260 Température = 19°,4

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Juillet* 1893

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Juillet 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	750	1.250	»	Canalis. = 500 bactér.
» de la Dhuis à Ménilmontant. . . .	1.100	3.825	»	Canalis. = 600 »
» de l'Avre (source).	4.650	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	36.000	58.430	21°,7	»
» de la Seine à Ivry	28.500	54.280	22°,2	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	45.500	76.810	»	Haut. = 0m,90
» de la Seine au pont de l'Alma. . . .	715.000	200.960	»	»
» de la Seine à Argenteuil	15.500.000	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	24.000	75.845	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits Chemin de Valenton, à Créteil	6.000	»	»	»
» rue Princesse (Paris)	34.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	1.700	3.280	»	»
» d'Asnières	600	2.330	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	43.000.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	11.000.000	27.400.000	»	»
» » traitée à Bondy	»	119.185	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Août* 1893

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 31 du 30 Juillet au 5 Août 1893 . .	9.170	2.150	17°1,	16mm,8	S.W	12km,3	167	65
N° 32 » 6 Août » 12 » » . .	8.340	2,650	20 ,8	0 ,6	N.E	8 ,9	167	69
N° 33 » 13 » » 19 » » . .	14.800	1,400	22 ,9	5 ,8	N.E	9 ,6	204	92
N° 34 » 20 » » 26 » » . .	12.330	1,500	19 ,5	0 ,2	S.W	12 ,4	137	57
N° 35 » 27 » » 2 Sept. » . .	13.470	2.160	16 ,4	7 ,1	N	13 ,3	114	61
MOYENNES ET TOTAUX	11.560	1,770	19°,3	30mm,5	Var.	11km,2	789	344
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Août 1893. Bactéries = 4.000 Moisissures = 320 Température = 17°,8

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Août 1893. Bactéries = 212 Moisissures = 220 Température = 19°,3

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Août* 1893

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Août 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	700	1.250	»	Canalis. = 1.800 bactéries
» de la Dhuis à Ménilmontant.	400	3.825	»	Canalis. = 1.300 »
» de l'Avre (source).	8.935	»	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	33.000	58.430	21°,3	»
» de la Seine à Ivry	66.000	54.280	21°,4	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	132.000	76.810	»	Haut. = $0^m,85$
» de la Seine au pont de l'Alma	1.115.000	200.960	»	»
» de la Seine à Argenteuil	11 800.000	»	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	21.000	75.845	»	»
» d'autres provenances.	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, rue Guénegaud, à Paris	3.000	»	»	»
» Jardin modèle (Asnières).	305.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur.	5.900	3.280	»	»
» d'Epinay	3.000	22.695	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	28.000.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	19.000.000	27.400.000	»	»
» » traitée à Bondy.	440.000	119.185	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

Marpmann. — Die Untersuchung des Strassenstaubes auf Tuberkelbacillen. La recherche des bacilles de la tuberculose dans la poussière (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIV, p. 229).

L'auteur a recherché la présence de bacilles tuberculeux dans la poussière par le microscope et par la culture. Il l'a fréquemment trouvé. Son procédé de culture paraît assez curieux. Il commence par faire bouillir les émulsions de poussière dans du bouillon pendant 1 heure, puis les ensemence dans des tubes d'agar remplis d'oxygène. Il aurait ainsi obtenu des cultures, tandis que les spores résistantes des anaérobies fréquentes dans les poussières ne croîtraient pas dans l'oxygène pur. Ce résultat nous paraît pour le moins étrange, vu qu'une température de 100 degrés tue les bacilles tuberculeux en peu de minutes, du moins de nombreux expérimentateurs l'affirment.

Dr Ad. Heider. — *Vibrio danubicus* (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIV, p. 341). L'auteur décrit un vibrion pathogène trouvé dans les eaux du Danube et présentant certaines ressemblances avec le vibrion cholérique et le vibrion de Metschnikoff.

De Bruyne. — De la phagocytose observée, sur le vivant, dans les branchies des mollusques lamellibranches (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 65).

C'est sur la moule que de Bruyne a le mieux observé l'attaque et la perforation de l'épithélium des branchies des mollusques ; d'après lui, le but physiologique de ce phénomène aurait vraisemblablement pour objet une sorte d'excrétion d'éléments cellulaires usés.

E. Mesnard. — Recherches sur la localisation des huiles grasses dans la germination des graines (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 111).

En exposant à l'action des vapeurs de l'acide chlorhydrique les coupes végétales, puis en les traitant par les vapeurs d'iode, on colore l'huile qui devient ainsi aisée à observer et à évaluer. L'auteur a pu par cette méthode apprécier : 1° que, sauf chez les graminées, les huiles grasses ne sont pas localisées dans des assises spéciales ; 2° que le dédoublement des huiles par saponification sous l'influence d'une diastase spéciale ne paraît pas devoir exister ; 3° enfin, que l'huile se montre, dans tous les cas, indépendante de l'amidon et du glucose, mais elle paraît se superposer aux matières albuminoïdes dans les réserves des graines mûres.

Charrin et Teissier. — Modifications de la pression artérielle sous l'influence des toxines pyocyaniques (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 151).

L'injection sous-cutanée des toxines pyocyaniques élève la pression artérielle d'autant plus fortement que la culture est plus riche en albuminoïdes, plus âgée et la dose injectée plus élevée. Ces augmentations de pression sont passagères.

S. Arloing. — Sur les propriétés pathogènes des matières solubles fabriquées par le microbe de la péripneumonie contagieuse des bovidés et leur valeur dans le diagnostic des formes chroniques de cette maladie (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 166).

M. le professeur Arloing étudie d'abord les effets généraux consécutifs à l'inoculation des cultures liquides du *Pneumobacillus liquefaciens*, puis l'action du poison soluble, la *pneumobacilline*, dialysé sur les animaux atteints de tares péripneumoniques ou de péripneumonies chroniques ; il arrive à établir que ces derniers sont plus sensibles à l'action de la *pneumobacilline* que les animaux sains.

L. Leger. — L'évolution des grégarines intestinales des vers marins (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 204).

D'après ses observations sur l'évolution des *Doliocystis*, l'auteur est amené à comprendre, dans le groupe des dicystidées les genres importants : *Schneideria*, propre au tube digestif des arthropodes terrestres, et le genre *Doliocystis*, propre au tube digestif des vers marins.

G. Couderc. — Sur les périthèces de l'*Uncinula spiralis* en France et l'identité de l'*Oïdium* américain et de l'*Oïdium* européen (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 210).

L'auteur établit, par des recherches effectuées sur les ceps de vignes français, que l'*Erysiphe Tuckeri* est identique à l'*Uncinula spiralis ;* d'où il déduit, avec juste raison, que nous n'avons pas à craindre pour nos vignobles l'importation d'Amérique d'une maladie nouvelle.

P.-A. Dangeard et Sappin-Trouffy. — Recherches histologiques sur les Urédinées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 211).

Ces deux savants examinent dans une très intéressante note la structure intime des mycéliums des Urédinées et leurs divers appareils de fructification : *Spermogonies*, *écidies*, *urédospores* et *téleutospores*.

Ch. Decagny. — Sur les matières formées par le nucléole chez le *Spirogyra setiformis* et sur la direction qu'il exerce sur elles au moment de la division du noyau cellulaire (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 269).

L. Ranvier. — Les Clasmatocytes, les cellules fixes du tissu conjonctif et les globules du pus (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 295).

Parmi les cellules qui se multiplient dans les tissus enflammés les Clasmatocytes et les leucocytes seuls produisent des globules purulents ; ces derniers globules sont des cellules lymphatiques mortes ou nécrosées.

A. Müntz et Coudon. — La fermentation ammoniacale de la terre (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*), t. CXVI, p. 395).

Ces auteurs ont découvert que la fermentation ammoniacale était due à de nombreux microorganismes (bactéries et moisissures) ; ils découvriront bientôt, il faut aussi l'espérer, que ces microbes sécrètent une diastase ; en attendant, voir pour plus de détails les travaux de Pasteur, van Tieghem, Miquel, von Jacksch, Leube, etc...

L. Hugounenq et J. Eraud. — Sur un microbe pathogène de l'orchite blennorrhagique (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 441).

L'orchite blennorrhagique est déterminée par un organisme spécial, indépendant du gonocoque de Neisser. Ce microbe se rencontre dans le pus blennorrhagique toutes les fois que l'uréthrite se complique ou doit se compliquer d'épididymite.

F. Thélohan. — Altérations des tissus musculaires dues à la présence des myxosporidies et des microbes chez le Barbeau (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 522).

Chez le Barbeau la présence des myxosporidies dans les faisceaux primitifs des muscles amène la dégénérescence vitreuse de ces éléments. Les faisceaux dégénérés disparaissent sous l'action de cellules phagocytaires qui, par suite, s'organisent en tissu conjonctif, qui emprisonnent les spores du parasite dans des sortes de kystes fibreux. Certains microbes trouvent dans le tissu dégénéré un terrain favorable, s'y développent et amènent la mortification et la fonte puriforme de ces tissus et du tissu conjonctif voisin.

J. Costantin. — Recherches expérimentales sur la môle et sur le traitement de cette maladie (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 529).

L'auteur se félicite de l'emploi du lysol à la dose de 2,5 p. 100,

soit comme moyen de désinfection, soit pour se débarrasser du moucheron (*Sciara ingenus*).

PRILLIEUX. — Une maladie de la Barbe de capucin (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 532).

Il est probable que le *Minet*, maladie des chicorées étiolées, est déterminé par un champignon très voisin du *Sclerotinia Libertiana ;* des essais démontrent que le saccharate de cuivre est un moyen puissant pour arrêter et prévenir cette maladie.

CH. DECAGNY. — Sur la morphologie du noyau cellulaire chez les Spirogyras et sur les phénomènes particuliers qui en résultent chez ces plantes (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 535).

J. COURMONT et H. DOYON. — La substance toxique qui engendre le tétanos résulte de l'action, sur l'organisme récepteur, d'un ferment soluble fabriqué par le bacille de Nicolaïer (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 593).

Le bacille de Nicolaïer engendre le tétanos par l'intermédiaire d'un ferment soluble qu'il fabrique ; ce ferment, non toxique par lui-même, élabore, aux dépens de l'organisme, une substance directement tétanisante, comparable, par ses effets, à la strychnine ; cette dernière substance, qui se retrouve dans les muscles tétaniques, résiste à l'ébullition, tandis que le ferment soluble est détruit à 65 degrés.

L. MANGIN. — Sur l'emploi du rouge de ruthénium en anatomie végétale (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 653).

A. RUFFER et H.-G. PLIMMER. — Sur le mode de reproduction des parasites du cancer (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 836).

Ce parasite contiendrait un petit noyau, ou protoplasme granuleux, entouré d'une capsule à double contour ; les réactifs colorants le différencieraient aisément des éléments histologiques ; enfin, il se multiplierait par simple division.

EM. BOURQUELOT. — Inulase et fermentation alcoolique indirecte de l'inuline (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 11-43).

A.-B. GRIFFITHS. — Ptomaïne extraite des urines dans l'eczéma (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 1205).

Cette base est blanche, cristalline, soluble dans l'eau ; elle peut donner des sels ; elle est très vénéneuse et ne se rencontre pas dans les urines normales.

Ac. Labbé. — Dimorphisme dans le développement des Hémosporidies (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 1209).

Al. Labbé. — Sur les coccidies des oiseaux (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 1300).

Chez les oiseaux il existe, à côté de l'infection coccidienne *chronique*, une infection coccidienne *aiguë*, qui peut être mortelle pour l'oiseau qui la subit.

Sappin-Trouffy. — La pseudo-fécondation chez les Urédinées et les phénomènes qui s'y rattachent (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 1304).

Ce travail comprend : l'étude de la naissance de la téleutospore, de la fusion des noyaux et des germinations de la téleutospore.

Molliard. — Sur deux cas de castration parasitaire observés chez *Knautia arvensis* (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 1307).

Lucien Lévy. — Sur la fermentation alcoolique des topinambours, sous l'influence des levures pures (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 1381).

Le moût des topinambours stérilisé, puis soumis à l'action des levures alcooliques pures, fournit très peu de produits de tête et une forte proportion d'alcool de bon goût.

S. Wigradsky. — De l'assimilation de l'azote gazeux de l'atmosphère par les microbes (*Comptes rendus de l'Académie de médecine*, t. CXVI, p. 1385).

Ch. Decagny. — Sur la concordance des phénomènes de la division du noyau cellulaire chez les lis et les Spirogyras et sur l'unité de cause qui la produit (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 1397).

L. Wuillemin. — Sur la fécondation des Puccininées (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 1464).

Charrin et Gley. — Mode d'action des substances produites par les microbes sur l'appareil circulatoire (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. CXVI, p. 1475).

Les toxines pyocyaniques agissent sur le cœur lui-même ; il reste à savoir si cette action s'exerce sur les fibres musculaires ou sur les ganglions intra-cardiaques ou, encore, sur les deux systèmes.

L'Éditeur-Gérant : Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

ANNALES
DE MICROGRAPHIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LA
PHYSIOLOGIE, LA MORPHOLOGIE ET LA PATHOLOGIE DES DIATOMÉES

Par le Dr P. MIQUEL

XI. — DU RÉTABLISSEMENT DE LA TAILLE ET DE LA RECTIFICATION DE LA FORME CHEZ LES DIATOMÉES

Avant d'aborder ce sujet il était indispensable d'étudier, ainsi que cela a été fait dans le paragraphe précédent, le rôle du noyau dans la multiplication par déduplication des Diatomées. En dehors des nombreuses et importantes fonctions physiologiques auxquelles préside le noyau de ces algues, nous avons vu qu'au moment de la division des cellules il lui incombe la tâche de créer de toute pièce, avec les caractères particuliers à chaque espèce, une valve, une *seule*, puisque la Diatomée fille en emprunte toujours une seconde à la Diatomée mère dont elle se détache. La cellule-mère, de son côté, fabrique une nouvelle valve pour remplacer celle qu'elle cède à la cellule-fille. Ce qu'on peut résumer en disant : que quand la division du noyau s'est accomplie dans un frustule, les deux noyaux résultant de cette scissiparisation se mettent séparément à former chacun de leur côté une valve nouvelle, à peu près de même grandeur, en tout cas *symétrique* au plan de division, plan qu'on sait être perpendiculaire à la ligne idéale qui joint les noyaux.

Je n'ai certainement pas l'envie de créer des mots nou-

veaux, on trouvera peut-être déjà que ceux de méga, méso et microfrustule encombrent inutilement la diatomologie, bien qu'ils me servent uniquement pour éviter les périphrases, si propres à obscurcir le langage et à compliquer les descriptions. En revanche, j'offre de supprimer le mot *frustule sporangial*, appliqué aux Diatomées nées de l'auxospore, et, si on y tient un peu, le mot *auxospore* lui-même qui n'offre pas un sens bien précis dans les cas du rétablissement de la taille maximum qu'il m'a été donné d'observer jusqu'ici chez les Diatomées.

Pour la clarté de mes explications, on voudra bien me permettre, encore, d'appeler *valve-mère* la valve qu'une Diatomée conserve pendant toute son existence, et *valve-fille* la valve qu'une partie du protoplasma emporte avec lui pour constituer un nouvel individu. Ainsi, un frustule normal aura toujours deux valves : l'une *mère*, l'autre *fille*. La valve-fille différera de grandeur de la valve-mère de deux fois l'épaisseur des connectifs; la valve-mère aura toujours ses connectifs enveloppants ; la valve-fille, ses connectifs enveloppés. Il est puéril d'ajouter que c'est la valve-mère qui est toujours la plus âgée.

Il est cependant un cas où les valves sont de même âge, si on doit appeler valves les enveloppes souvent irrégulières des mégafrustules primordiaux dits : *auxospores*. En dehors de ces cas exceptionnels, toutes les Diatomées sont formées de valves d'âges différents.

Je rappellerai, encore, que, dans le paragraphe précédent, j'ai indiqué, avec la façon de colorer les noyaux des Diatomées, la manière dont se sculptent et se confectionnent les valves-filles ; je ne reviendrai pas sur ces divers points de mon mémoire, mais je rappellerai que, pendant la division, les valves se forment dans le suc cellulaire, par suite d'une contraction intelligente du protoplasme, appropriée aux accidents valvaires qu'il importe de reproduire. La figure 1 semi-schématique, que je donne ici, ne saurait mieux rendre ma pensée et donner, en même temps, une idée plus précise des faits qu'on observe durant la déduplication des Diatomées.

Qu'arrive-t-il, au contraire, quand un microfrustule est apte à rétablir la taille devenue trop petite d'une Diatomée?

Choisissons un exemple, soit dans la tribu des Nitzschies, soit dans celle des Navicules, où le rétablissement de la grandeur initiale du végétal semble présenter le plus de complications. Le mode de croissance qui vient d'être figuré est aboli. Le protoplasme, au lieu de croître comme précédemment *parallèlement* à l'axe idéal qui joint les noyaux, mode de multiplication qui tend à anéantir l'espèce chez les Diatomées, devient le siège de phénomènes nouveaux. La Diatomée s'immobilise, sa physionomie change, son protoplasme massif qui s'appliquait exactement contre les parois des valves s'arrondit de tous côtés, même aux extrémités chez les Diatomées lancéolées. Ce protoplasme ramené sur lui-même, trapu, gonfle de toutes parts, écarte les valves siliceuses qui ne peuvent plus le contenir et lui sont désormais inutiles. Il grossit, puis s'allonge considérablement perpendiculairement à la direction de la ligne droite, qui aurait joint les deux noyaux si la division du frustule s'était effectuée à la manière habituelle.

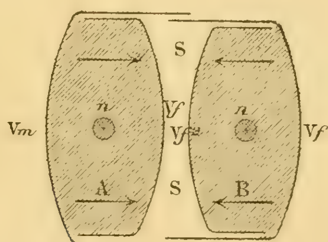


Fig. 1. — Représentation semi-schématique de la multiplication par déduplication chez les Diatomacées vivant à l'état dissocié.

A, cellule-mère ; B, cellule-fille ; V*m*, valve-mère ; V*f*, V*f*, valves-filles de 1re génération ; Vf^2, valve-fille de 2e génération ; S, S, espace laissé libre par la contraction du protoplasme et rempli de suc cellulaire; *n*, *n*, noyaux. Les flèches indiquent le sens de la croissance du protoplasme après l'achèvement des cellules A et B.

La figure 2 donne de même, d'une façon schématique, la succession des phénomènes qui précèdent et accompagnent le rétablissement de la taille chez les Diatomées naviculées ou de forme lancéolée.

Le diagramme A représente la diminution progressive du protoplasme à la suite des déduplications. On a supposé que la division a débuté de la valve-mère V*m* du

mégafrustule primordial, s'est continuée et s'est terminée par la production de la dernière des valves-filles V*f*. Les flèches indiquent la direction forcée de la croissance du protoplasme. La taille de la Diatomée arrivée à une certaine limite, représentée ici par le microfrustule B, le protoplasme, sans phénomènes préliminaires de fécondation, du moins nettement perceptibles, s'accroît longitudinalement, perpendiculairement à l'axe LL qui joint les noyaux et récupère en quelques heures la hauteur représentée en F qu'il peut avoir mis plusieurs années à perdre.

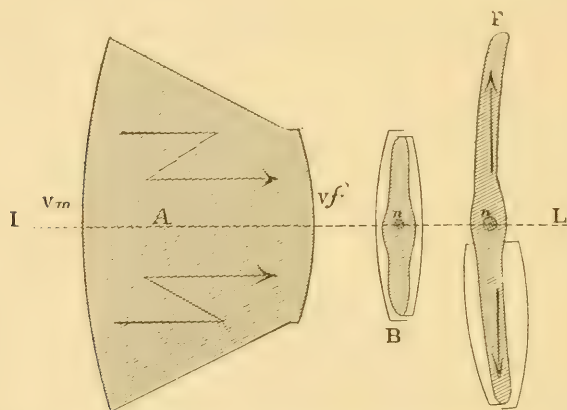


Fig. 2. — Indication semi-schématique des phénomènes qui précèdent et suivent le rétablissement de la taille chez les Diatomacées.

A. — LL, ligne joignant les noyaux ; V*m*, valve-mère du mégafrustule primordial ; V*f*, valve-fille du microfrustule dont le protoplasme rétablit la taille de l'espèce. Les flèches brisées indiquent le sens alternatif de la croissance du protoplasme (représenté par une teinte ombrée) pendant la multiplication des Diatomacées par déduplication.

B. — *n*, noyau sur la ligne LL. Période pendant laquelle le protoplasme s'organise et se prépare à rétablir la taille de l'espèce.

F. — *n*, noyau sur la ligne LL. Croissance symétrique du protoplasme perpendiculairement à la ligne LL qui joint les noyaux. Refoulement par le boudin protoplasmique des valves vides du microfrustule à une des extrémités du mégafrustule primordial. Les flèches indiquent le nouveau sens de croissance du protoplasme.

Cette théorie du rétablissement de la taille maximum des Diatomées, basée sur un grand nombre d'observations, sur des cultures où les auxospores ont apparu par millions plusieurs fois l'an, me semble enlever à cet acte naturel du rétablissement de la taille tout le mystère dont il plaisait à

quelques Diatomistes de l'entourer. En effet, rien ne devient maintenant plus simple et plus compréhensible :

Un végétal de taille déterminée est contraint par mode de multiplication particulier à décroître progressivement et appelé à disparaître si ce mode de multiplication se poursuit. Le noyau qui, entre autre mission, a celle de conserver l'espèce, imprime à la végétation du protoplasme de la cellule un mode d'accroissement qui porte un remède direct et immédiat à cet acheminement d'un être vivant vers le néant. Le protoplasme, qui croissait dans une direction déterminée, retenu par les parois inextensibles de la cellule, se débarrasse tout à coup de son enveloppe et végète dans une direction absolument opposée. Il semble en vérité que la nature ne pouvait pas choisir un moyen plus simple, plus pratique, pour sauver l'espèce.

Il reste, il est vrai, à déterminer les conditions qui provoquent ou favorisent ce mode d'accroissement si spécial. Pour l'espèce que j'ai le plus longtemps étudiée : la *Nitzschia palea*, c'est au mois d'avril et de septembre que le protoplasme possède les qualités voulues pour croître perpendiculairement à l'axe qui joint les noyaux. Le *Melosira varians* donne des mégafrustules primordiaux en toutes saisons, soit sous l'action de la lumière du jour, soit sous l'action des radiations de la lumière artificielle. Quelques Navicules recherchent à cette occasion une demi-obscurité. Le *Biddulphia aurita* exige une température assez basse pour manifester le pouvoir, resté latent pendant de longs mois, de récupérer sa taille primitive.

Mais ce sont là des questions de second ordre qui doivent, surtout, trouver leur place dans l'histoire botanique des espèces; aussi, nous ne nous attarderons pas à ces détails, et nous reprendrons, sans nous laisser distraire par des faits secondaires, l'étude du rétablissement de la taille et de la forme des Diatomées en nous réservant de revenir ultérieurement sur les causes qui provoquent ou favorisent ce phénomène.

Du moment où le protoplasme doit croître dans une direction perpendiculaire à celle où il croît habituellement, il se trouve dans l'impérieuse nécessité d'abandonner une enveloppe inextensible qui, non seulement, s'oppose à ce

nouveau genre de végétation, mais qui va devenir beaucoup trop petite pour loger toute sa masse. C'est là, en effet, ce qu'on observe ; le protoplasme se met à végéter en dehors de toute carapace siliceuse. Il ne faudrait pourtant pas croire que cette végétation a quelque chose de désordonné, le noyau la régit au contraire avec une précision mathématique. Cette végétation s'arrête dès que le but est atteint, c'est-à-dire dès que la taille primitive des frustules se trouve rétablie.

Je ne saurais partager à cet égard l'opinion de M. le comte de Castracane qui qualifie ces productions protoplasmiques appelées auxospores de *monstrueuses* et d'*inféeondes ;* cet auteur tombe, à cette occasion, dans une erreur profonde ; un mégafrustule primordial résultant de la végétation libre du protoplasme ne saurait, on le conçoit aisément, posséder la régularité géométrique des valves nées sous les connectifs ; quant à la prétendue infécondité de ces monstruosités, j'en donnerai une idée approximative à ce savant italien en lui affirmant que les êtres qui peuvent naître de ces sortes de cellules, occuperaient un volume plusieurs fois supérieur à la terre, si la nourriture et les radiations favorables à leur déduplication leur étaient dispensées à discrétion.

La forme souvent bizarre des mégafrustules primordiaux tient surtout à leur mode d'accroissement. Jusqu'au moment du rétablissement de la taille, le protoplasme était tenu emprisonné dans des valves fabriquées successivement et méthodiquement à l'abri de causes pouvant troubler leur régularité. Mais voici qu'il faut maintenant que ce même protoplasme adopte un genre de vie, passager, il est vrai, mais absolument opposé à celui qui lui est habituel :

1° Qu'il croisse dans un plan perpendiculaire à la ligne qui joint les noyaux ;

2° Qu'il végète en dehors des valves, c'est-à-dire sans sa cuirasse protectrice habituelle ;

3° Qu'il soit entouré d'une membrane extensible ;

4° Qu'il fabrique ultérieurement et en un seul temps, non plus *une* valve, mais *deux*.

Pour s'allonger, comme cela s'observe chez les Nitzs-

chies et les Navicules, le protoplasme recouvert d'une membrane extensible adopte le mode d'accroissement qu'on remarque si fréquemment chez les espèces inférieures dont le thalle est continu. Sous l'influence d'une turgidité spéciale de la cellule ovalaire, plus résistante dans sa partie médiane qu'aux extrémités, ces extrémités s'arrondissent et progressent à la fois des deux côtés opposés comme cela s'observe dans la germination des spores de beaucoup d'algues et de beaucoup de champignons. Il serait vraiment surprenant et contraire à toutes les lois de la botanique de voir ses extrémités molles, s'allongeant sous la pression du protoplasme, affecter des formes aiguës analogues aux rostres de la *Nitzschia palea*, se multipliant par déduplication. Si les extrémités des mégafrustules primordiaux de cette Diatomée sont arrondies, c'est donc parce que ces extrémités ont été appelées à s'allonger à deux pôles opposés du noyau.

L'état de mollesse de la masse protoplasmique peut ensuite nous expliquer pourquoi les mégafrustules primordiaux se présentent souvent recourbés, irréguliers, pleins de bosselures, etc. ; le boudin protoplasmique en végétant rencontre fréquemment des obstacles qui l'obligent à s'incurver, à progresser dans des gorges étroites, à contourner des anfractuosités, en un mot ces sortes de myceliums sont loin de pouvoir se développer toujours librement, ce qui se traduit par des aspects divers très variés du mégafrustule primordial, si variés qu'il n'existe pas dans une macération deux auxospores qui soient parfaitement identiques, quel qu'en soit le nombre. Mais, entre un être difforme et une monstruosité inféconde, il y a loin ainsi que nous allons le démontrer.

La masse plastique arrivée à son plus grand degré de développement se recouvre d'une membrane siliceuse sécrétée par l'enveloppe, fortement organisée, qui entoure le protoplasme pendant son évolution en dehors des valves des microfrustules. Cette coque de silice est absolument indépendante du protoplasme, elle peut être comparée à l'enveloppe calcaire d'un œuf ; une fois formée, il n'est pas au pouvoir du protoplasme de la détruire, de la résorber et de la modifier sensiblement ; peut-être cette dernière

substance a-t-elle la faculté de la renforcer le cas échéant.

Voici donc le contenu vivant et considérablement accru de microfrustules de nouveau emprisonné dans une cuirasse siliceuse ; il s'agit d'étudier ce qui va se passer, d'apprendre comment de nouvelles générations de Diatomées vont pouvoir naître de ce mégafrustule plus ou moins régulier.

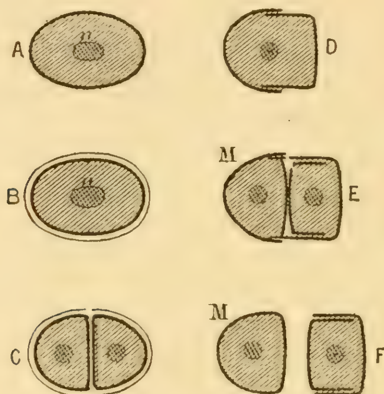


Fig. 3. — Indiquant par coupes à la hauteur du noyau la formation de la 1[re] cellule-fille originaire d'une des moitiés d'un mégafrustule primordial. En B et C l'enveloppe siliceuse est séparée de la membrane propre du protoplasme ; en D, E et F cette enveloppe se confond avec celle du protoplasme. Ces dessins semi-schématiques s'appliquent aux Diatomacées vivant à l'état dissocié dont la longueur est plus grande que la largeur et notamment à la *Nitzschia palea*.

A. — Mégafrustule primordial, en voie de croissance, non encore recouvert de son enveloppe siliceuse ; *n*, noyau.

B. — Mégafrustule primordial arrivé à maturité et recouvert de sa membrane siliceuse ; *n*, noyau.

C. — Division du mégafrustule primordial en deux cellules-mères.

D. — Stade de croissance du protoplasme d'une cellule-mère primordiale appelée à fournir une cellule-fille.

E. — M, cellule-mère primordiale ayant fourni une cellule-fille.

F. — M, cellule-mère primordiale séparée de sa cellule-fille et dont le protoplasme commence à s'accroître pour donner une seconde cellule-fille.

Faisons, d'abord, remarquer que la coque siliceuse sécrétée n'est pas continue, qu'elle offre dans un plan perpendiculaire à la ligne qui joindra les futurs noyaux une solution de continuité, et qu'en réalité l'enveloppe siliceuse du mégafrustule primordial est formée par deux moitiés dont les bords sont si peu soudés entre eux, qu'en faisant bouillir avec ménagement ces mégafrustules dans de l'acide nitrique faible, on arrive à mettre ces enveloppes

siliceuses en évidence et à les séparer, souvent comme deux valves, de la membrane cellulosique contenant le protoplasme qui, elle aussi, résiste assez bien à l'action de l'acide nitrique bouillant.

Je ne saurais affirmer aujourd'hui si la sécrétion de silice à la surface du mégafrustule est antérieure à un commencement de division de la membrane entourant le protoplasme de l'auxospore, ou si elle se fait à l'instant même où cette dernière se creuse d'un sillon pour se diviser ; en tout cas, la figure 3 montre la série des phénomènes visibles qui se passent dans les mégafrustules arrivés à leur maturité.

En A, on voit une coupe à la hauteur du noyau d'une auxospore de *Nitzschie palea*, encore en voie de croissance, une forte membrane extensible, l'enveloppe de tout côté. En B, la croissance est achevée, et la sécrétion de la coque siliceuse est déjà terminée. En C, le protoplasme s'est divisé, deux valves-mères se sont formées et, à partir de cet instant, chaque moitié du mégafrustule va avoir une vie particulière et va fournir un nombre indéterminé de cellules-filles par le mécanisme habituel de la déduplication indiquée en D, M et E, M et F.

Comme c'est dans le mégafrustule primordial que se taillent les premières Diatomées filles, il est certain que, si ce mégafrustule est irrégulier, la forme des Diatomées filles aura quelque peu à en souffrir. En effet, on remarque qu'il se produit alors des rectifications de forme sous l'influence du noyau, chargé de maintenir à la fois la taille et la beauté héréditaires des frustules. Ces modifications s'opèrent rapidement, elles débutent dès que le mégafrustule primordial se cloisonne (voir *fig*. 4).

Soit A un mégafrustule très fortement cintré ; la cloison médiane qui le divisera possédera une courbure beaucoup moindre. Quant à la première cellule F qui en procède (voir *fig*. 4, en B), sa valve-fille pourra être rectiligne si la valve de la Diatomée considérée est ordinairement plane. Les rectifications sur la face valvaire (voir *fig*. 4, en C) commencent également à se manifester dès la première bipartition, et le noyau peut fabriquer une valve *v* presque parfaite d'emblée. D'autres fois, le mégafrustule pri-

mordial est tellement difforme que les Diatomées filles de deuxième et troisième génération sont encore recourbées ou échancrées sur leur face valvaire; mais, au bout de quelques cultures successives, ces défauts originels ont disparu et on chercherait en vain un frustule défectueux parmi les milliards de Diatomées évoluant dans les macérations de deuxième ou troisième ensemencement.

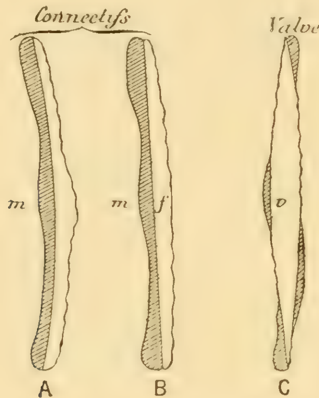


Fig. 4. — Rectification de la forme des valves chez les diatomées filles, dérivant des mégafrustules primordiaux irréguliers. Ces dessins, semi-schématiques, s'appliquent aux Diatomées vivant à l'état dissocié et dont les dimensions longitudinales excèdent de beaucoup les dimensions transversales.

A. — Mégafrustule primordial irrégulier vu par la face connective, la partie *m* ombrée, dont le contour situé à gauche aurait dû être exactement reproduit en B, et à gauche également, forme une valve-fille régulièrement courbée, qui est un commencement de rectification.

B. — Cette valve courbe est poussée à l'extérieur par la croissance horizontale du protoplasme; deux nouvelles cloisons se forment, celles-ci sont linéaires et la valve-fille *f* a déjà un aspect à peu près régulier. Les nouvelles cellules-filles qui naîtront maintenant de *m* (en B) auront leurs valves rectilignes, en supposant qu'elles doivent être ainsi dans l'espèce.

C. — Face valvaire de la Diatomée. Les parties ombrées ajoutées à la valve *v* donnent l'ensemble de la coupe d'un mégafrustule difforme. *v* est la valve rectifiée par le noyau qui procède ici à la rectification par voie d'étranglement et en connectivant définitivement les portions superflues ou inutiles pour la confection des valves.

Nota. — C'est à tort que le dessinateur a cru bien faire en ondulant les valves en A, B et C ; les lignes ne doivent présenter aucun tremblottement.

Cependant une remarque importante doit trouver ici sa place, car elle nous permet de comprendre pourquoi, chez la même espèce de Diatomée, certains frustules possèdent des valves étroites élancées, et d'autres de larges, de plus ovales, etc... Nous venons de voir que les valves des pre-

mières Diatomées filles se taillent sur la section du mégafrustule primordial, qu'il n'est pas deux de ces mégafrustules qui se ressemblent : les uns en effet sont larges, d'autres courts, d'autres étroits et, pour employer une expression vulgaire, mais qui rend bien ma pensée, le noyau du mégafrustule taille sa première valve-fille sur l'étoffe qu'il a à sa disposition. Si la section du mégafrustule est longue et étroite, la Diatomée fille sera très lancéolée, maigre et filiforme ; si elle est, au contraire, large et courte, la Diatomée née du mégafrustule aura des valves replètes, d'un ovale plus gracieux, etc... Cette physionomie, les Diatomées la conservent jusqu'à l'époque d'un nouveau rétablissement de la taille et de la forme ; je crois que, si l'on pouvait prendre entre les mains un mégafrustule primordial et le pétrir avant qu'il ait sécrété son enveloppe siliceuse, on fabriquerait certainement des Diatomées qui, tout en continuant d'être de la même espèce, auraient des aires valvaires présentant des différences notables. Ce qu'il n'est pas facile au Diatomiste de faire, le hasard l'accomplit très souvent ; aussi dans la détermination des variétés, il faut avoir présente à l'esprit la remarque que je viens de mentionner, et, lorsqu'une valve comparée à une autre offre des dessins et des sculptures à peu près identiques, les caractères tirés de la forme générale du frustule, du rapport des axes de la valve, surtout, me paraissent bien précaires ; si on cède, en pareil cas, au désir de baptiser une Diatomée, on complique certainement l'étude botanique d'une famille d'algues contenant, affirme-t-on, douze mille espèces ou variétés !

Puisque l'occasion s'en présente, je vais également indiquer une cause de déformation des Diatomées, certainement bien connue de tous les naturalistes, mais qu'il m'a été possible d'étudier et de suivre, pas à pas, dans des cultures tout à fait pures :

La *Nitzschia linearis*, dont j'ai déjà parlé dans le paragraphe IX de ces recherches, et dont je poursuis patiemment l'étude, possédait, dans une première culture, 115 μ de longueur. Aujourd'hui, après 18 mois de cultures successives, au nombre de 42, cette taille est descendue à 65 μ. La longueur de la *Nitzschia linearis* a donc

diminué de 50 μ, tandis que la largeur de ses valves, voisine de 7 μ dans la première macération, n'a pas sensiblement diminué. Il suffit de comparer les rapports 115 : 7 et 50 : 7 pour se convaincre que les figures ont cessé d'être proportionnelles, par conséquent semblables. Les Diatomées possédant des axes valvaires inégaux sont donc soumises à une incessante modification de forme résultant du phénomène de la déduplication.

Je cultive depuis longtemps sous l'action de radiations mitigées de la lumière du jour, la Diatomée qui a reçu le nom de *Navicula elliptica*. Cette espèce ayant fourni de nombreuses auxospores dans sa culture artificielle, j'ai pris les dimensions de sa valve chez les mégafrustules fort voisins de la taille rétablie ; les deux diamètres des valves ont été alors en moyenne trouvés respectivement égaux à 41,1 μ et à 15,6 μ. En répétant ces mensurations sur les microfrustules, procréateurs des auxospores, les chiffres trouvés ont été égaux à 23,4 μ et 12,6 μ. Les rapports 41,1 : 15,6 et 23,4 : 12,6 sont respectivement égaux à 2,6 et 1,85, ce qui indique bien que les figures ont cessé d'être semblables, et que les foyers de l'ellipse, en admettant, ce qui n'est pas exact, que cette valve soit rigoureusement elliptique, se sont considérablement rapprochés l'un de l'autre. Cette déformation progressive est due à l'épaisseur plus grande des connectifs au voisinage des extrémités du grand axe qu'au voisinage des extrémités du petit axe. Ainsi, les valves des Diatomées sont sujettes à deux sortes de déformations : les unes sont originelles, les autres s'acquièrent durant les phénomènes de fissiparité à la suite desquels les Diatomées diminuent de taille. Nous n'avons pas à faire entrer ici en ligne de compte les déformations dues à de véritables accidents, à des perforations, à des ruptures, à des caprices du protoplasme, enfin aux effets très curieux qu'exerce sur la structure des valves la nature ou l'insuffisance des éléments nutritifs qu'on leur distribue dans les milieux artificiels.

Un fait qui surprendra certainement les Diatomistes, comme il m'a également surpris, est la diminution inappréciable au micromètre de la largeur des valves chez des

espèces très lancéolées. Il semblerait dans ce cas que les connectifs latéraux, des Nitzchies, des Synédrées, etc., sont d'une extrême minceur, ou, qu'une fois isolés de la cellule-mère, le protoplasme de la cellule-fille peut repousser légèrement les connectifs latéraux et conserver à la valve la même épaisseur. Si l'on admet que ce refoulement des connectifs est impossible, il faut supposer que l'épaisseur des lames de silice qui les constitue dans les régions latérales peuvent être inférieures à 1 : 100 de millième de millimètre. Malheureusement les instruments d'optique qu'on peut se procurer aujourd'hui sont loin de posséder des objectifs assez puissants pour permettre la mensuration des coupes des connectifs de la plupart des Diatomées ; aussi, il est difficile de se prononcer pour ou contre le refoulement à l'extérieur des connectifs par le protoplasme dans la région voisine du noyau après la déduplication régulière ; un seul fait reste certain, c'est la faible variabilité du petit axe chez les Diatomées de forme longitudinale exagérée, tandis que les diminutions de ces valves dans le sens de la longueur sont très appréciables au bout de quelques cultures.

J'avais également parlé, il y a environ un an, dans le paragraphe IX de ce mémoire de la formation du mégafrustule primordial chez le *Melosira varians*, Diatomée filamenteuse, dont tous les observateurs ont pu à loisir examiner les articles renflés sur le parcours des chaînes. A cette époque j'avais pu suivre les diverses phases du renflement des articles, mais je n'avais pu assister au passage des corps sphériques produits à l'état de frustules cylindriques.

En décembre 1892, je fus plus heureux et une de mes cultures artificielles de *Melosira varians* offrit des millions d'exemples de ce rétablissement de forme. En traitant une partie de cette culture par l'acide nitrique qui réduit le protoplasme massif et les phéoleucites à un petit amas de granulations, il a été aisé de me rendre un compte exact de toutes les phases du passage des mégafrustules primordiaux à l'état de mégafrustules-filles.

Voici, du reste, dans la figure 5 la représentation graphique semi-schématique de cette transition ; les dessins in-

diqués par les lettres A, B, C, D, E bien que légèrement sché matiques, se rapprochent beaucoup des frustules contenus dans les préparations que je possède. Le dessin (*fig.* 6) est une chaîne de mégafrustules grossie 400 fois, copiée à la chambre claire sans l'intervention de lignes conventionnelles.

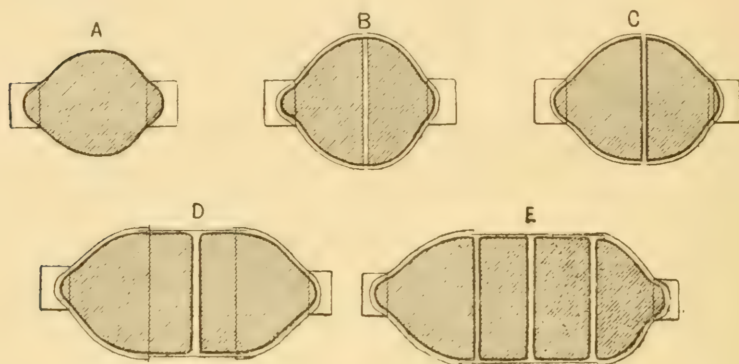


Fig. 5. — Rétablissement de la taille et de la forme chez le *Melosira varians*. Dessins semi-schématiques d'après des études calquées à la chambre claire.

A. — Protoplasme en croissance entouré seulement de sa membrane extensible.
B. — Mégafrustule primordial dont l'enveloppe siliceuse est, ainsi que dans les dessins suivants, légèrement éloignée de la membrane propre du protoplasme.
C. — Division du mégafrustule primordial en deux Diatomées mères primordiales.
D. — Croissance symétrique des Diatomées mères ayant chacune une valve-fille.
E. — Formation symétrique des deux premières cellules-filles.
Les valves siliceuses perpendiculaires au filament du Mélosire ne sont pas représentées en C, D et E. La ligne forte figure, seulement, l'enveloppe propre du protoplasme.
Nota. — Plusieurs fautes sont imputables au graveur dans ce dessin : en B, les petites lignes parallèles doivent rejoindre les connectifs; en C, les membranes en traits forts doivent se joindre aux traits parallèles en s'arrondissant.

Le protoplasme de l'article qui doit rétablir la taille de cette Diatomée gonfle, repousse les microfrustules et s'épanche à l'intérieur entouré d'une membrane extensible, lisse, épaisse, que respecte l'acide azotique ordinaire à l'ébullition. Cette membrane est continue, c'est-à-dire que, durant sa croissance, on n'y distingue pas de sillon équatorial ; de plus, elle est molle, car, en imprimant des mouvements de torsion à la chaîne d'articles qui est le siège de semblables gonflements, on parvient à plisser cette membrane, à la déformer comme si elle était en bau-

druche. Le corps plein de protoplasme et de phéoleucites qui se forme à ce moment, tantôt sphérique, tantôt piriforme ou ellipsoïdal, se recouvre d'une membrane siliceuse sécrétée par la membrane cellulosique sous-jacente. Je crois essentiel de faire remarquer qu'il n'y a pas de silicification de la première enveloppe, comme on est parfois porté à le dire, mais formation par sécrétion d'une coque siliceuse séparable par les acides de la membrane propre du protoplasme.



Fig. 6. — Chaîne mégafrustulaire de *Melosira varians*, exactement copiée à la chambre claire, après la déduplication des deux premières cellules-filles. La cellule-mère de droite a déjà fourni une troisième cellule-fille, tandis que la cellule-mère de gauche est seulement en voie de grossir pour fournir la quatrième. Gross. = 400 diamètres.

Cette coque ou têt est pourvue d'une ligne équatoriale ou grand cercle perpendiculaire à la ligne qui joint les noyaux de la chaîne. Au moyen des acides, on parvient aisément à transformer cette coque en deux calottes sphériques isolées. Simultanément ou après la sécrétion de ce connectif, le protoplasme se divise en deux parties, suivant le plan passant par la ligne équatoriale, et il se forme deux valves circulaires accolées l'une à l'autre. Cela fait, le protoplasme s'accroît, ordinairement en même temps, dans les deux hémisphères; les valves sont poussées l'une contre l'autre; mais, comme dans cette position elles ne sauraient bouger, cela amène un recul des calottes sphériques, et l'issue symétrique de deux masses cylindriques de protoplasme. A ce moment la sphère primitive est transformée en deux productions cylindro-sphériques opposées par la base comme deux obus de faible hauteur accolées par leur surface plane. Deux nouvelles valves sont alors sécrétées dans le plan équatorial de l'auxospore primitive, et on se trouve en présence de deux frustules cylindriques de *Melosira varians*, premières cellules-filles d'aspect normal. Tandis que les hémisphères vont continuer à donner des cellules-filles, toutes de même taille, ces dernières

deviendront mères à leur tour et produiront une chaîne d'articles de diamètre maximum (voir *fig.* 6).

J'ai observé les mêmes phases de rétablissement de la taille chez le *Melosira nummuloïdes*, dont les mégafrustules sont à peu près exactement sphériques (paragraphe IX), mais dont les microfrustules sont ordinairement cylindro-sphériques. Il faut sans doute attribuer ce changement de la forme du frustule à la diminution progressive du diamètre du végétal déterminée par la division ordinaire ; on comprend très bien qu'alors le protoplasme, ne pouvant plus se loger dans des valves de volume trop réduit, cherche à se caser en se créant des connectifs très allongés, ce qui remédie provisoirement à la diminution du diamètre des sphères. Le noyau qui a, nous l'avons répété souvent, mission de maintenir la physionomie de la valve, continue à agir en maintenant celle-ci rigoureusement hémisphérique.

Le *Biddulphia aurita* rétablit sa taille et la forme de ses valves de la même façon que les Mélosires (voir *fig.* 7). Les microfrustules de cette Diatomée, qui ont souvent des connectifs d'une longueur surprenante, laissent échapper une masse protoplasmique très volumineuse qui croît lentement, se transforme en manchon cylindro-ovoïde qu'on voit plus tard s'entourer d'une membrane siliceuse au-dessous de laquelle commence le travail de la division qui se fait progressivement avec une régularité vraiment remarquable. Ces valves compliquées acquièrent du premier coup un grand degré de perfection ; cependant, suivant que la masse protoplasmique est plus ou moins aplatie, les valves sont plus ou moins étroites. Les connectifs des premières cellules-filles sont très courts ; mais, au fur et à mesure que les valves décroissent, sous l'influence de la scissiparisation, les connectifs grandissent et atteignent, nous l'avons dit, des dimensions exagérées ; d'ailleurs, le même fait se remarque chez tous les Biddulphes ou, du moins, j'ai pu l'observer, chez le *Biddulphia rhombus* et *Baileyi*. Au sujet du rétablissement que nous venons de mentionner, il reste peu de choses à signaler, si ce n'est que la taille du *Biddulphia aurita* triple ordinairement durant cette reproduction.

Passons maintenant à l'étude d'une Diatomée naviculaire qu'il m'a été donné de cultiver très facilement dans les milieux artificiels. Cette espèce connue sous le nom de *Navicula elliptica* fut isolée d'un échantillon d'eau de mer contenant des Licmophores que M. Bergon eut l'obligeance de me faire parvenir des bords de la Méditerranée. Cette Diatomée apparut au sein des cultures sous l'aspect qu'elle présente en B (*fig.* 8). Dans les trois premières cultures en séries elle ne diminua pas sensiblement de grandeur ; au bout du cinquième ensemencement, elle donna des auxospores.

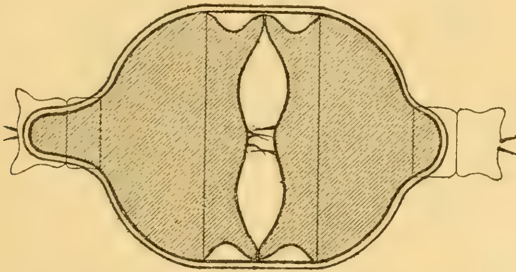


Fig. 7. — Rétablissement de la taille et de la forme chez le *Biddulphia aurita*. Dessin semi-schématique.

Le protoplasme d'un microfrustule a considérablement grossi après avoir quitté les valves, et s'est ensuite recouvert d'une membrane siliceuse éloignée dans la figure de la membrane propre du protoplasme; puis sous un connectif cylindro-ovoïde les deux premières valves-filles se sont formées sous l'influence de la rétraction lente et méthodique des membranes des deux masses protoplasmiques provenant de la bipartition. Le dessin est pris à l'instant où les premières valves-filles sont parfaitement confectionnées. Comme chez le *Melosira varians*, les deux masses ainsi divisées vont s'accroître horizontalement, et il se formera par le même mécanisme un cordon de cellules-filles de *Biddulphia aurita*, qui resteront unies ou se dissocieront plus ou moins.

Nota. — C'est à tort que le graveur a tiré une ligne, sous-jacente à l'enveloppe siliceuse unissant la membrane des deux valves du Biddulphe; cette ligne ne doit pas exister.

Chez la *Navicula elliptica*, le phénomène du rétablissement de la taille est moins curieux que chez la *Nitzschia palea*. Comme toujours, le protoplasme des frustules revêt une forte membrane extensible dans l'intérieur de la Diatomée, grossit, écarte les valves, s'accroît symétriquement et simultanément dans deux directions diamétralement opposées, perpendiculairement à la ligne des noyaux et cesse de végéter dès que le mégafrustule primordial est arrivé à la taille voulue (*fig.* 8, voir en D).

A ce moment il sécrète deux valves irrégulières ornées des principaux dessins qui caractérisent l'espèce ; puis, la division commence et les valves se perfectionnent ainsi que je l'ai dit. Dans le cas particulier de la *Navicula elliptica*, l'auxospore est, en général, beaucoup plus régulière que chez les Nitzschies allongées ; cependant les formes bizarres, piriformes, ne sont pas très rares (*fig*. 8, voir en

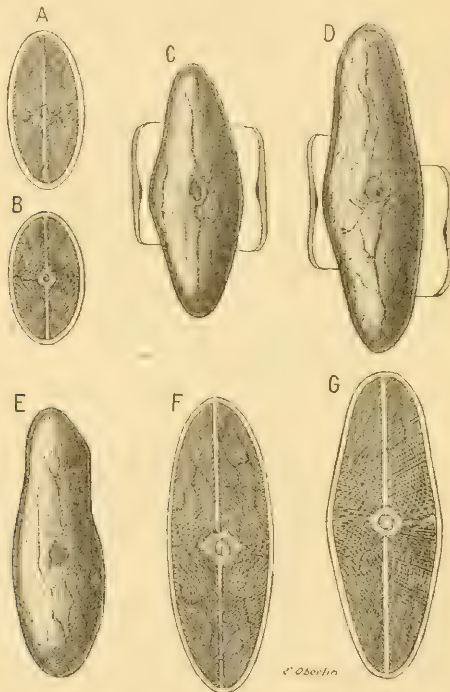


Fig. 8. — Rétablissement de la taille et de la forme chez la *Navicula elliptica*.

A et B. — Microfrustule de la Navicule dont les rapports des axes sont inégaux.

C. — Germination et accroissement du contenu d'un microfrustule dont les valves sont vides, placées latéralement et vues sur la face connective.

D. — Mégafrustule primordial de la *Navicula elliptica* arrivé, à peu près, à maturité.

E. — Mégafrustule primordial irrégulier.

F et G. — Mégafrustules dissemblables originaires de deux auxospores dissemblables.

Dans ces figures, dessinées à la chambre claire, l'endochrome a été représenté. Gross. = 850 diamètres.

E). La malformation la plus fréquente consiste dans une enflure bilatérale qui se retrouve chez les cellules-filles mé-

gafrustulaires (*fig.* 8, voir en C). Le type *elliptica* parfait (*fig.* 8, en F) est beaucoup moins fréquent ; mais, au fur et à mesure que les générations se succèdent, ces protubérances ventrales s'atténuent et ne se retrouvent plus dans les microfrustules (*fig.* 8, voir en A et B) ; enfin il n'est pas rare de rencontrer des microfrustules de même taille, possesseurs de diamètres dissemblables ; nous avons dit que cela était dû à la forme primitive, souvent peu comparable, des mégafrustules primordiaux.

Je ne parlerai pas du rétablissement de la taille et de la forme chez les cyclotelles ; j'ai antérieurement insisté en particulier sur celui du *Cyclotella Comta ;* il s'accomplit d'une façon analogue à ceux que nous venons d'étudier chez les Diatomées des genres les plus opposés.

CONCLUSIONS ET REMARQUES

Les conclusions qui suivent sont basées sur l'examen attentif du rétablissement de la taille et de la forme chez deux mélosires, les *Melosira varians* et *nummuloïdes ;* chez un cyclotelle, le *Cyclotella Comta ;* chez deux biddulphes, les *Biddulphia aurita* et *rhombus ;* chez une Nitzschie, la *Nitzschia palea ;* chez une Navicule, la *Navicula elliptica.* Soit sur sept espèces cultivées artificiellement dans le laboratoire. Je néglige de tenir compte dans cette énumération des rétablissements plus ou moins probables que j'ai pu accidentellement observer dans les matériaux qui m'ont été envoyés, ou que j'ai recueilli moi-même aux environs de Paris et principalement dans les réservoirs filtrants des bassins installés au pont de Sèvres, pour purifier l'eau au moyen du procédé Anderson. Mes observations sur ces sortes de rétablissements, je ne les ai considérées comme probantes que quand j'ai pu les renouveler à satiété sur des préparations ou des cultures effectuées en cellules, contenant des millions d'auxospores, parfois dans la proportion de 10 à 15 p. 100 des Diatomées présentes ; je me suis, en un mot, entouré de toutes les garanties possibles, et j'ai lieu de croire que les expérimentateurs qui

répéteront mes expériences, dans les conditions où je me suis placé, verront comme moi que le rétablissement de la taille et de la forme s'effectue d'une façon très simple chez les Diatomacées et, à peu près, toujours de la même manière. Je crois donc que les conclusions que je donne ici, bien que reposant seulement sur sept cas de rétablissement de lataille, ont un caractère de généralité que des travaux ultérieurs surle même sujet confirmeront pleinement.

1° Le moment arrivé pour le rétablissement de la forme chez les Diatomacées, le protoplasme contenu dans les microfrustules s'entoure d'une membrane épaisse extensible, pouvant résister aux acides minéraux les plus puissants ; cette membrane paraît formée de cellulose et d'hydrate de silice dans un état chimique qu'il reste à déterminer ; quoi qu'il en soit, cette enveloppe du protoplasme, se forme et s'organise avant que ce dernier se soit débarrassé des valves qui l'emprisonnent dans le microfrustule. Très souvent, le protoplasme cesse d'adhérer ou de s'appuyer comme d'ordinaire à la surface interne des valves avant sa sortie de l'intérieur des frustules.

2° Les valves sont ensuite écartées et rejetées par le protoplasme en voie de croissance; si on agit d'une façon mécanique sur la nouvelle cellule débarrassée de son enveloppe siliceuse, on constate que la membrane qui la forme est molle, flexible, quoique tendue et assez résistante; si l'on dépasse la limite de son élasticité, elle crève, et le protoplasme s'écoule à l'extérieur avec les phéoleucites et les autres éléments qu'elle emprisonne. La croissance du protoplasme, ainsi organisé, se fait perpendiculairement à l'axe qui joindra les futurs noyaux quand surviendra le phénomène de la division. Ce n'est pas uniquement dans une seule direction que s'opère cette croissance, elle a lieu habituellement dans tous les sens, mais elle est relativement très restreinte dans le sens parallèle à l'axe des noyaux, quand le protoplasme doit rétablir la forme d'une espèce à valves étroites, et de grandes dimensions longitudinales. La croissance du protoplasme s'arrête, quand ce dernier a récupéré la taille que la multiplication par déduplication lui avait fait perdre.

3° La croissance du protoplasme achevée, quel que soit

la forme qu'il adopte, sa membrane extérieure sécrète une enveloppe siliceuse. Bien qu'on emploie souvent le mot silicification, pour désigner l'acte par lequel la valve et les connectifs se produisent, notons que ce terme est impropre, et qu'il s'agit, simplement ici, d'une sécrétion de silice ; cela est si vrai qu'on peut, dans les auxospores arrivées depuis quelque temps à maturité, séparer au moyen des réactifs la membrane sécrétante de la membrane sécrétée. Mais, comme je l'ai dit antérieurement, cette sécrétion de silice fait défaut dans le plan perpendiculaire à la ligne des noyaux, ce qui transforme l'auxospore en une véritable Diatomée possédant deux valves-mères exactement accolées bord à bord ou s'imbriquant d'une façon peu visible l'une dans l'autre. C'est dans ce plan que le protoplasme se divise en formant deux valves intérieures, les deux premières valves-filles. Puis, enfin, ces deux moitiés du mégafrustule primordial fournissent par déduplication des générations de Diatomées dont on peut représenter le nombre et les individus de même taille par l'expression algébrique $2\ (1+1)^n$.

4° Le noyau est le grand régénérateur de la forme des valves des Diatomées nées des auxospores ; dès la première division, le noyau impose presque d'une façon parfaite les caractères héréditaires des espèces sur les valves, en rectifiant à la fois les défauts de la forme générale des valves et en perfectionnant les dessins qui doivent les recouvrir. Au bout de quelques générations, les cellules sont devenues parfaitement régulières, tout en conservant parfois une physionomie spéciale due à la manière d'être, très variable, du mégafrustule primordial. Si ce dernier est étroit, les Diatomées qui en procéderont seront évidemment étroites ; s'il est gros et large, les Diatomées qui en naîtront seront pleines, belles et d'un aspect plus agréable. Je dis évidemment, car on conçoit facilement que, puisque dans les Diatomacées normales le protoplasma ne peut croître que dans une seule direction, suivant la ligne qui joint les noyaux, alternativement à gauche et à droite, parallèlement à cette ligne, il est impossible, en dehors de la formation des mégafrustules primordiaux, qu'une Diatomacée puisse s'élargir sensiblement dans n'importe quelle direction dans un plan perpendiculaire à cette ligne.

Observations. — Les traités spécialement écrits sur les Diatomées sont très sobres de détails sur le rétablissement de la taille chez ces algues ; on voit, dans la plupart d'entre eux, apparaître avec les mêmes figures les mêmes explications. Ces figures sont celles de Pfitzer, Smith, Deby et de quelques autres auteurs. Quelques Diatomistes ont même été jusqu'à représenter comme auxospores des corpuscules ressemblant aux larves d'insectes ou à certaines productions cryptogamiques, ce qui ne les empêche pas de voir là des formes typiques d'auxospores. J'ignore si les sporanges des Diatomées peuvent apparaître sous ces aspects singuliers et déconcertants ; tout ce que je puis affirmer, c'est qu'ils sont très rarement rencontrés ; pour ce motif, on doit, il me semble, les tenir pour suspects. Je comprends infiniment mieux les figures de Pfitzer et de Smith ; mais laissons la question des œufs de Diatomées, je veux uniquement parler du rétablissement de la taille ; or, voici ce qu'on trouve à ce sujet dans les ouvrages de botanique les plus estimés :

Les Diatomées, dont la taille doit se rétablir, *sécrètent* tout d'abord une *abondante matière gélatineuse* dans laquelle le protoplasme s'épanche à *nu* ou simplement recouvert d'une *fine membrane* de cellulose entièrement *dépourvue de silice*. Le protoplasme ainsi débarrassé de ses valves donne alors une *spore ;* cette dernière se nourrit dans le milieu ambiant, croît et se transforme en une *auxospore;* alors seulement le corps protoplasmique sécrète, *sous* la membrane de cellulose qui ne tarde pas à se détruire, une membrane siliceuse formée de deux moitiés emboîtées l'une dans l'autre, et le *frustule sporangial* se trouve constitué.

Pour d'autres auteurs, le protoplasme épanché dans la *glu* donne non une *spore*, mais un *sporange ;* dans ce sporange naît un frustule qui grandit rapidement enveloppé d'une membrane plus ou moins siliceuse, plissé en travers ; ce frustule est l'*auxospore* qui déchire la membrane du sporange en grandissant; puis de l'intérieur de l'auxospore arrivé à maturité sort le *frustule sporangial* parfait, exactement comme Minerve toute armée du cerveau de Jupiter.

Autant la première description de la formation du frustule sporangial est vraisemblable, autant la seconde ne répond à aucun fait connu des botanistes; examinons-la un instant : un sporange se forme d'emblée, un frustule y croît dans son intérieur, s'entoure d'une nouvelle membrane, nouveau sporange (auxospore), qui crève le premier, puis de cette *auxosporange* sort le frustule auxosporien ou *frustule sporangial*. Cette dernière théorie du rétablissement de la taille des Diatomées n'est réellement pas *sérieuse* et ne mérite pas, certainement, qu'on s'y arrête. Au contraire, celle qui a été rapportée tout d'abord semble découler d'observations consciencieuses, mais incomplètes, ayant le tort de s'appuyer sur un trop faible nombre de cas particuliers. Plus heureux, j'ai eu à ma disposition un nombre indéfini d'auxospores et j'ai le regret de ne pouvoir confirmer entièrement les observations de Pfitzer et de Smith.

Ainsi, je n'ai pas encore assisté à la sécrétion de cette matière gélatineuse où le protoplasme forme la *spore;* je n'ai pas vu non plus le protoplasme s'échapper *nu* des valves; avant d'en sortir, il s'entoure au contraire d'une membrane très épaisse et très résistante aux réactifs. Ce n'est pas *au-dessous* de cette membrane de cellulose pure que se forme la coque siliceuse qui transforme le protoplasme en Diatomées mais *au-dessus*. En quelques mots, voici dans toute sa simplicité le phénomène du rétablissement de la taille chez les Diatomées, tel que je l'ai aperçu dans des cultures où les auxospores étaient au nombre de plusieurs millions par centimètre cube.

Le contenu du microfrustule se condense et s'entoure d'une forte membrane ; puis, sans autres phénomènes visibles, cette sorte de spore germe et donne un végétal qui n'est autre que la Diatomée de taille rétablie.

Les questions d'affinage, de régularisation de la valve sont des actes secondaires entièrement sous la dépendance de la vie poursuivie de la cellule ; le fait qui domine en tout ceci est uniquement la croissance du protoplasme, débarrassé de ses carapaces siliceuses, dans un sens perpendiculaire à la ligne qui joint les noyaux, c'est-à-dire parallèlement à laquelle on voit ce protoplasme croître

habituellement en donnant par division des Diatomées dissociées ou groupées en filaments.

J'ignore si l'on doit donner le nom de *spore* au protoplasme du microfrustule qu'on voit s'organiser dans l'intérieur des valves pour donner directement un mégafrustule; en tout cas, cette expression n'a rien de choquant, et rien ne s'oppose à ce qu'on l'adopte.

Quant à ceux qui trouveraient que le nom de Diatomée mère ou de mégafrustule primordial ne saurait être donné à la Diatomée formée directement par cette spore, je répondrai qu'il existe, au contraire, en botanique une foule de spores et de zoospores pouvant reproduire d'emblée le végétal dont elles proviennent elles-mêmes ; si ce végétal est une Diatomée, rien, il me semble, ne nous empêche d'identifier ces auxospores à un frustule de Diatomées.

En effet, la végétation qui naît du microfrustule rappelle dans sa forme générale l'aspect de ce frustule ; dans quelques cas très rares, il est vrai, chez le *Melosira varians*, par exemple, le mégafrustule primordial est sphérique (1); mais, si on le suit dans son évolution, on voit toutes les Diatomées filles qui en proviennent se montrer parfaitement cylindriques ; chez les cyclotelles, le protoplasme s'épanche sous la forme de disque; chez les espèces naviculées, sous la forme de nacelle; il y a donc dans le protoplasme végétant hors des valves une tendance marquée, d'adopter la forme de la Diatomée dont il doit rétablir la grandeur.

Examinons de plus près ce mégafrustule primordial, qu'on serait porté à considérer comme un sporange, ou une vraie auxospore ; il offre ordinairement sur ses parois siliceuses les points carénaux, les raphés, les nodules, les stries qui caractérisent l'espèce ; ces sculptures diverses apparaissent avec l'irrégularité que la végétation du pro-

---

(1) C'est à mon avis faire preuve d'une certaine étroitesse de vues que de refuser le nom de Diatomée aux productions plus ou moins irrégulières qui renferment tous les éléments essentiels de ces algues. La Botanique démontre que l'enveloppe de la cellule est précisément ce qui doit le moins intéresser, car cette enveloppe, le protoplasme l'abandonne très souvent pour aller en dehors d'elle coloniser ailleurs des êtres vivants, entourés de membranes identiques ou dissemblables.

toplasme, hors de tout abri, a imprimée sur la membrane flexible et molle du mégafrustule avant le stade de sécrétion de la silice.

Enfin, la soi-disante auxospore est mobile, quand elle appartient aux espèces douées de mobilité : on la voit souvent traîner à la remorque avec elle les valves du microfrustule dont elle est née, et que la sécrétion de l'enveloppe siliceuse du mégafrustule a fixée par quelques points de soudure.

Je crois que ces faits sont suffisamment probants pour nous permettre de considérer le mégafrustule primordial comme une véritable Diatomée mère, dont les valves ont le même âge, et pour nous faire considérer comme au moins inutiles et non justifiés, dans les cas que j'ai envisagés ici, les mots d'*auxospores* et de *frustules sporangiaux*.

Les sept cas de rétablissement de la taille et de la forme, sur lesquels j'ai basé les affirmations exposées dans ce paragraphe, n'ont pas porté, je le répète encore une dernière fois, sur l'examen fortuit d'une Diatomée en voie de rétablir sa taille et sa forme, mais sur une quantité aussi grande que j'ai voulu, de cas semblables.

Il est clair que, n'ayant jamais eu l'occasion d'assister aux phénomènes de conjugaison des Diatomées, il m'est difficile d'affirmer ou de nier la réalité de ces phénomènes. Il est fort probable que, dans des conditions spéciales qu'il reste à déterminer, le contenu de deux frustules puisse se fondre, et les noyaux se combiner pour puiser une énergie vitale plus grande et un sens héréditaire plus parfait, et qu'alors, de cette fusion par isogamie ou hétérogamie, il puisse naître un œuf et, dans cet œuf, se former un frustule sporangial plus grand, plus parfait que dans le rétablissement de la taille et de la forme par le mode habituel sur lequel je viens d'insister.

Cette opinion est d'autant plus soutenable qu'un groupe de savants très distingués, parmi lesquels Pfitzer et Smith, ont pu voir chez les Diatomacées des phénomènes génératifs qui rappellent ceux qu'on observe couramment chez les Conjuguées et chez beaucoup de Thallophytes jouissant de la faculté de produire des zygospores. On doit donc souhaiter de trouver les conditions où ces phénomènes, si

rarement observés dans la nature chez les algues qui nous occupent, puissent s'offrir en grand nombre et nous permettre de compléter l'étude d'un des modes de reproduction les plus intéressants des Diatomées.

Plusieurs Diatomistes ont encore admis que le contenu des Diatomées pouvait se fragmenter et donner de nombreuses spores capables, à leur émission des valves, de germer et de produire par voie de croissance progressive des Diatomées des plus grandes tailles. On assiste bien souvent à une sorte de fragmentation de l'endochrome chez les phéophycées siliceuses ; on peut même la provoquer en ensevelissant des Diatomées parfaitement endochromées dans une couche de vase humide, stérilisée au préalable, qu'on laisse se dessécher avec une extrême lenteur, mais il ne paraît pas que cette division de l'endochrome, s'il y a réellement division et non simplement changement de forme des phéoleucites par contraction, intéresse le noyau ; or, si cet organe indispensable à la reproduction des cellules végétales ne participe pas à cette prétendue division, comment ces prétendues spores peuvent-elles donner des Diatomées en germant ultérieurement ?

Les partisans de la multiplication des Diatomées par graines ou spores, nées en grand nombre dans les frustules siliceux transformés ainsi momentanément en sporanges comparables aux sporanges des Mucorinées, etc., doivent, il me semble, apporter à l'appui de leurs affirmations quelques faits faciles à contrôler par les algologues, qui trouvent cette théorie sinon invraisemblable, du moins basée sur un trop faible nombre d'observations. Celles que j'ai pu recueillir sur ce sujet, loin d'être favorables à la théorie de formation des microspores chez les Diatomacées, y sont absolument contraires.

Nous avons vu jusqu'ici le noyau jouer un rôle capital dans le rétablissement de la taille et de la forme des Diatomées, c'est lui qui paraît organiser l'enveloppe du protoplasme du microfrustule, de façon à lui permettre de croître, hors des valves ; c'est lui qui donne une orientation nouvelle à cette croissance ; c'est lui qui, une fois la taille maximum atteinte, provoque la division du mégafrustule primor-

dial, et, au bout de quelques déduplications, la rectification de la forme des frustules par des procédés admirables de simplicité et de précision, dépendant tous de la contraction instinctive et intelligente du protoplasme de la cellule.

Dans certaines conditions cependant, le noyau est pris de défaillance, c'est-à-dire qu'il se montre incapable d'accomplir sa tâche la plus habituelle, celle de la division du frustule par déduplication. Quand pourtant cette division arrive à se compléter, les valves des Diatomées qui sont, en général, remarquables par leur régularité deviennent asymétriques, recourbées, ondulées, lorsqu'elles doivent être symétriques et planes; les connectifs eux-mêmes peuvent également devenir bizarres ou monstrueux, parfois les valves ne se forment qu'à moitié, restent soudées, etc.; bref, le noyau ne semble plus capable d'amener à bien la multiplication normale des Diatomacées.

Ces faits curieux s'observent principalement quand le noyau est intoxiqué ou insuffisamment nourri. Les dernières Diatomées qui naissent, par exemple, dans une culture épuisée par de très nombreuses générations de frustules, présentent toujours des malformations qui ont pour origine l'anémie du noyau et l'insuffisance de sucs nutritifs aptes à favoriser le développement du protoplasme. Mais je ne toucherai pas ici incidemment à cette question ; j'estime qu'elle est beaucoup trop importante pour faire l'objet de simples considérations générales. Prochainement, je parlerai donc des maladies du noyau et des conséquences funestes qui en résultent pour la beauté de la forme des séduisantes algues microscopiques qui nous occupent. Il se pourrait bien qu'après avoir inspiré du dédain à quelques botanistes, ces algues, par leur propriété singulière d'immortaliser sur leur carapace les modifications morphologiques qu'on peut provoquer en agissant sur leur noyau et leur protoplasme, devinssent du plus grand secours pour l'étude de la cellule dont on a seulement commencé à ébaucher l'histoire. Ce serait assurément une noble revanche aux boutades injustifiées lancées, par quelques ignorants, contre les observateurs opiniâtres et consciencieux qui ont reçu le nom de Diatomistes.

REVUES ET ANALYSES[1]

C. de Man. — **Sur l'action des hautes températures sur le bacille de la tuberculose** (*Arch. für Hygiene*, XVIII, p. 133).

La résistance du bacille de la tuberculose a déjà fait l'objet de nombreux travaux qu'il serait trop long de citer tous ici. Cependant leurs résultats diffèrent assez largement pour qu'il ait valu la peine de les reprendre en tenant mieux compte qu'on ne l'a fait jusqu'ici des conditions d'expérience. M. de Man fait, en effet, observer avec raison que, dans de pareilles expériences, de légères divergences dans les conditions de l'expérience peuvent entraîner de notables variations. Ainsi, il n'est pas indifférent d'employer des cultures liquides ou des morceaux d'organes dans l'intérieur desquels la chaleur ne pénètre qu'avec lenteur; il n'est pas indifférent non plus d'employer un bain-marie ou la flamme directe d'un bec de gaz, etc. M. de Man s'est servi de bains-marie très bien réglés; quand il se servait de nodules tuberculeux ou de sputa, il les broyait finement et les diluait de manière à leur donner une consistance aussi égale que possible ; souvent aussi il soumettait à l'action des températures étudiées le suc et le lait recueillis dans la glande mammaire de vaches affectées de mastite tuberculeuse. Les liquides, dont la virulence était toujours éprouvée, étaient répartis dans de petits tubes de verre dans l'intérieur desquels plongeait un thermomètre ; il était ainsi possible de savoir quand la température voulue était réellement atteinte. La vie ou la mort des bacilles était constatée par le résultat de l'inoculation après le chauffage.

L'auteur est arrivé aux résultats suivants :

Les bacilles de la tuberculose sont tués :

à 55° après 4 heures.
à 60° après 1 »
à 65° après 1/4 »
à 70° après 10 minutes.
à 80° après 5 »
à 90° après 2 »
à 95° après 1 »

(1) Les travaux qui rentrent dans le cadre des *Annales de micrographie* seront annoncés ou analysés au fur et à mesure de leur réception au bureau du journal.

A 50 degrés, les bacilles ne sont pas encore tués après 12 heures. La température de 55 degrés, qui ne les tue qu'après 5 heures, les affaiblit cependant déjà après 3 heures.

M. de Man s'est toujours servi de bacilles provenant directement de l'organisme. Si l'on compare ses résultats à ceux de M. Boschoff, qui opérait très soigneusement aussi, mais avec des cultures artificielles, on voit que celles-ci sont douées d'une résistance un peu moindre. (*Hygienische Rundschau*, 1892, p. 23.)

E. F.

Dr Uschinsky. — **Sur un liquide de culture pour les bactéries exempt d'albumine et quelques remarques sur le poison du tétanos.** (*Centralblatt für Bakteriologie*, XIV, p. 316.)

M. Uschinsky a réussi à cultiver diverses bactéries pathogènes dans des liquides de culture exempts d'albumine et a montré qu'ils y produisent leurs toxines. Ces dernières seraient donc le produit d'une synthèse et non pas, comme on l'a généralement cru, un produit de la décomposition des matières albuminoïdes des terrains nutritifs. Ces toxines appartiendraient aux corps protéiques et paraîtraient être des albumoses ou des peptones. Le liquide nutritif employé par l'auteur était le suivant :

Eau.	1000	gr.
Glycérine.	30-40	»
Chlorure de sodium. . . .	5-7	»
Chlorure de calcium. . .	0,1	»
Sulfate de magnésie. . .	0,2-0,4	»
Biphosphate de potasse.	0,2-2,5	»
Lactate d'ammonium. . .	6-7	»
Natrium asparaginicum.	3,4	»

M. Uschinsky a surtout étudié le virus diphtéritique et tétanique.

Le bacille de la diphtérie croît très bien dans ce milieu. Les cultures filtrées donnent la réaction de Milon et celle de la xanthoprotéine. L'alcool fort précipite le poison.

Le bacille tétanique y croît aussi très bien quand on ajoute 1 à 2 p. 100 de sucre de raisin et que l'on empêche l'accès de l'air. Le poison tétanique est peu résistant. Quand on le précipite par l'alcool, il est souvent détruit. On réussit mieux avec le phosphate de calcium. Les cultures filtrées donnent une faible réaction de Milon et de xanthoprotéine.

Il s'agirait ainsi de corps protéiques et, d'après l'auteur, ces

toxines auraient beaucoup d'analogie avec les ferments. Ce qui rendrait cette hypothèse plausible serait, aussi, le fait que le formaldéhyde, qui, d'après M. Lœw, enlève aux enzymes leurs propriétés fermentaires, affaiblit notablement le virus tétanique, de même que le fait qu'une grande quantité de toxines n'amène pas la mort plus rapidement qu'une dose toxique modérée. S'il s'agissait d'un véritable poison, le plus ou moins de rapidité des symptômes dépendrait de la quantité ; s'il s'agit d'un ferment, le poison ne se formerait que dans l'organisme sous l'influence de ce ferment.

Ces recherches sont certainement du plus haut intérêt, car la connaissance des causes de l'immunité et de la guérison des maladies infectieuses, dépend surtout de nos notions sur la nature ultime des poisons bactériens.

E. F.

Dr L. Brieger et Dr G. Cohn. — **Recherches sur le virus tétanique** (*Zeitschrift für Hygiene u. Infectionskrankheiten*, XV, 1)

Dans cet intéressant travail, les auteurs cherchent à élucider la nature du virus tétanique.

De précédents travaux avaient conduit M. Brieger à classer les toxines des cultures bactériennes parmi les corps albuminoïdes, car on n'avait pas réussi, jusque-là, à les séparer des substances albuminoïdes qui les accompagnent dans les cultures artificielles. MM. Brieger et Cohn semblent maintenant avoir réussi à le faire. Ils n'ont pas, comme M. Uschinsky, cultivé le bacille tétanique sur des milieux exempts de matières albuminoïdes, mais dans du bouillon. Pour précipiter le poison tétanique, ils se servirent du sulfate d'ammonium dont on sursature les bouillons de culture préalablement purgés de germes par filtration. Le poison monte à la surface où il peut être recueilli ; on l'obtient ainsi dans une forme très concentrée ; il tue les souris à la dose de 0,0000001 gr., tandis qu'il faut 0,00005 centimètres cubes de bouillon de culture pour obtenir le même effet. Mais ce poison ainsi préparé contient encore : 1° de l'albumine et de la peptone ; 2° des acides amidés ; 3° des traces de produits volatils à odeur désagréable ; 4° du sulfate d'ammonium et d'autres sels. Les auteurs n'ayant pas réussi à éliminer les substances albuminoïdes en les rendant insolubles, ils cherchèrent un moyen de les enlever par précipitation. Ils y réussirent après de longs essais en employant avec grande prudence l'acétate de plomb basique auquel on ajouta une très petite quantité d'ammoniaque. Ensuite ils débarrassèrent la toxine des peptones des acides amidés et des sels en la dialysant

pendant 24 à 48 heures. Finalement, ils écartèrent les produits volatils en évaporant dans le vide à 20 à 22 degrés.

Le virus tétanique se présente alors sous forme de pellicules jaunâtres, transparentes, solubles dans l'eau, sans odeur, et ayant un goût de gomme arabique. Cette substance exerce un pouvoir rotatoire droit sur la lumière polarisée.

La réaction de Milon ne s'obtient plus, ni celle de la xanthoprotéine ; la cuisson avec le chlorure de fer ne donne pas de coloration rouge (absence d'amides). Avec le sulfate de cuivre et la soude, par contre, on a une coloration violette, faible, mais pas la réaction du biuret (coloration rose). Ces procédés paraissent donc avoir éliminé toutes les matières albuminoïdes et les peptones du virus. La précipitation par le sulfate d'ammonium est une propriété qui n'appartient pas uniquement à l'albumine et, d'après les auteurs, le virus tétanique ne serait pas en tous cas une véritable substance albuminoïde. Cette conclusion se rapproche, on le voit, de celles du travail de M. Uschinsky, que nous analysons ici même.

E. F.

Dr Roncali. — **De l'action du venin du bacille tétanique** (*Annali dell' Istituto d'igiene sperimentale della R. Università di Roma*, vol. III, fasc. 2).

L'auteur cherche à préciser, dans son travail, le rôle des associations microbiennes dans le tétanos.

Pour cette maladie, en particulier, ces associations paraissent jouer un rôle important, car on voit le tétanos se développer surtout à la suite de blessures infectées par d'autres microbes. MM. Vaillant et Vincent ont même vu, dans leurs expériences, contredites, il est vrai, par d'autres qu'a faites le Dr Roncali, et dont nous donnerons aussi un résumé (Contribution à l'étude de l'infection tétanique chez les animaux), que les spores tétaniques, privées de tétanotoxine, inoculées seules, ne provoquaient pas le tétanos.

Les recherches du Dr Roncali ont eu pour objet les points suivants :

I. — Des actions associées des produits de culture du bacille du tétanos avec ceux d'autres microorganismes pathogènes ou non pathogènes.

II. — De la manière de se comporter du bacille du tétanos lorsqu'il pénètre secondairement dans un organisme dont la résistance physiologique est diminuée soit par infection, soit par intoxication bactérienne préalable, soit par une autre cause.

III. — Des modifications que présentent les microorganismes pathogènes et non pathogènes quand on les fait vivre sur des terrains de culture imprégnés de tétanotoxine.

IV. — Lorsque des animaux meurent à la suite de l'inoculation de produits de culture du bacille tétanique associés à ceux d'un autre microorganisme (ce qui, nous le verrons, entraîne une mort très rapide), les deux produits de culture conservent-ils dans les organes et le sang de ces animaux la même propriété de tuer en très peu de temps ?

Pour donner une idée de l'extension donnée à ces recherches par l'auteur, disons qu'il y a soumis 40 microorganismes différents et qu'il a employé 804 cobayes et 50 lapins. Voici les conclusions de son travail :

1° Toutes les fois que l'on inocule dans le tissu sous-cutané d'un animal les produits de culture du bacille du tétanos associés à ceux d'un autre microorganisme, que celui-ci soit pathogène ou non, la mort de l'animal a constamment lieu dans l'espace de 12 à 14 heures par toxicémie double avec symptômes tétaniques ;

2° Cette intoxication n'est pas attribuable à l'action d'un nouveau produit chimique qui serait élaboré *in vitro* par les deux microorganismes qui y ont végété ensemble ; mais elle provient du fait que les deux produits de culture agissent séparément l'un de l'autre dans l'organisme dans lequel on les inocule et qu'ils accumulent probablement leurs effets ;

3° Lorsqu'un animal se trouve en état de résistance diminuée à la suite d'une infection primaire et que survient une infection tétanique secondaire, l'animal meurt d'un tétanos suraigu et, toutes les fois qu'un animal contracte une infection tétanique devenant chronique sans tuer l'animal, et que l'on surajoute une infection secondaire par d'autres microorganismes, le tétanos prend une forme aiguë et l'animal meurt ;

4° Quand, à la suite de l'absorption de matières putrides ou de suppurations circonscrites dans différentes parties du corps, un organisme se trouve dans un état de résistance physiologique diminuée et que survient une infection tétanique, la nouvelle infection trouve un terrain favorable pour se développer d'une façon aiguë ;

4° Les surfaces suppurantes ne sont pas une porte d'entrée favorable pour l'infection par les bacilles du tétanos ;

6° Le traumatisme local n'exerce chez le cobaye aucune influence sur le cours de l'infection tétanique;

7° Aucun microorganisme aérobie, qu'il soit pathogène ou non, n'a le pouvoir de décomposer la toxine élaborée par le bacille du tétanos ;

8° Le *Bacillus fluorescens*, le *Bacillus cyanogenus*, le *Bacillus indicus*, le *Bacillus subtilis*, le *Bacillus prodigiosus* et le *Bacillus fluorescens liquefaciens*, que l'on inocule aux animaux avec leurs produits de culture, après les avoir fait vivre pendant un certain temps sur des terrains de culture imprégnés de tétano-

toxine, n'acquièrent pas, pour cela, la faculté de se multiplier dans l'organisme, c'est-à-dire ne deviennent pas pathogènes, mais ils acquièrent la propriété d'élaborer des produits éminemment vénéneux, c'est-à-dire ils sont devenus toxiques.

Dans ses expériences, l'auteur se servait de tubes en U, remplis d'agar, dont une branche était inoculée avec le bacille tétanique ; un morceau de ouate placé à la base du tube empêche le passage des bacilles sans s'opposer à la diffusion des toxines et au bout de quelques jours on inocule dans la seconde branche le microorganisme à étudier. Plus tard, on le réensemence sur de l'agar stérile pour l'inoculer aux animaux. Les microbes susnommés n'avaient complètement perdu ces qualités toxiques dues à la culture sur un terrain imprégné de tétanotoxine qu'après le neuvième passage sur agar stérile ;

9° La bactéridie charbonneuse acquiert, par son passage sur des terrains de culture imprégnés de tétanotoxine, une plus grande virulence, de façon à faire périr régulièrement les cobayes de septicémie en 24-28 heures ;

10° Toutes les fois que l'on fait vivre pendant un certain temps, sur un terrain sur lequel le bacille tétanique a végété, le *Bac. cavicida*, le *Bac. cuniculicida*, le *Bac. typhique*, le bac. du choléra, le pneumo-bacille de Friedlaender, les *Staphylococcus pyogenes aureus* et *albus* atténués, et qu'on les inocule, après les avoir débarrassés de la tétanotoxine, dans le tissu sous-cutané d'un cobaye, on constate qu'ils ont récupéré la faculté de se multiplier dans l'organisme ;

11° La tétanotoxine donne au *Bac. cuniculicida*, qui, habituellement n'est pas septicémique pour les cobayes, la faculté de se multiplier dans leur organisme et de les faire périr par septicémie.

En ce qui concerne le quatrième point des recherches de M. Roncali, il a constaté que le sang, le foie, la rate, les reins et les poumons d'un cobaye mort à la suite de l'infection tétanique suraiguë produite par l'inoculation des toxines du bacille tétanique jointes à celles d'un autre microorganisme, font mourir de toxicémie les cobayes auxquels on les inocule en quantité suffisante avec symptômes tétaniques en 20 à 24 heures.

E. F.

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Septembre* 1893

DÉSIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimètr.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 36 du 3 Sept. au 9 Sept. 1893 . .	20.000	1.650	18°,3	1mm,9	N.E	13km,1	118	68
N° 37 » 10 » » 16 » » . .	17.340	3,500	16 ,4	2 ,0	N.E	11 ,5	131	64
N° 38 » 17 » » 23 » » . .	21.350	6,330	14 ,0	12 ,7	S.W	15 ,8	103	58
N° 39 » 24 » » 30 » » . .	13.170	4,000	12 ,9	16 ,9	S.W	15 ,1	107	57
» » » » » » . .	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	17.965	3,870	15°,4	33mm,5	Var.	13km,8	459	247
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises : les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Septembre 1893. Bactéries = 7.000 Moisissures = 665 Température = 16°,2

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Septembre 1893. Bactéries = 275 Moisissures = 295 Température = 15°,4

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Septembre* 1893

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Septembre 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	600	1.250	»	»
» de la Dhuis à Ménilmontant.	1.700	3.825	»	»
» de l'Avre (réservoir de Villejust). . . .	1.550	3.820	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	19.000	58.430	17°,1	»
» de la Seine à Ivry	39.000	54.280	17°,2	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz . . .	126.000	76.810	»	Haut. = 0m,70
» de la Seine au pont de l'Alma	750.000	200.960	»	»
» de la Seine à Argenteuil	91.000.000	8.780.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette	24.000	75.845	»	»
» d'autres provenances.	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits, Maisons-Alfort	25.000	»	»	»
» de la Mairie à Achères.	402.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Eau du drain de Saint-Maur.	18.800	3.280	»	»
» d'Asnières	600	2.330	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	52.500.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	33.000.000	27.405.000	»	»
» » traitée à Bondy.	»	119.185.000	»	»

OBSERVATOIRE MUNICIPAL DE MONTSOURIS

BULLETIN MENSUEL D'ANALYSE MICROGRAPHIQUE

Analyse de l'air de Paris (Hôtel de ville), *Octobre* 1893

DESIGNATION des SEMAINES	MICROPHYTES par m. c.		DONNÉES MÉTÉOROLOGIQUES				MALADIES	
	BACTÉRIES	MOISISSURES	TEMPÉRAT. moyenne	PLUIE — Hauteur en millimèt.	VENT Direction moyenne	VENT Vitesse moyenne	ZYMOTIQUES [1]	SAISONNIÈRES [2]
N° 40 du 2 Juillet au 8 Juillet 1893 . .	6.830	4.830	12°,9	37mm,3	SW	15km,5	86	59
N° 41 » 9 » » 15 » » . .	7.500	3.150	12 ,6	8 ,8	SW	13 ,5	72	98
N° 42 » 16 » » 22 » » . .	17.000	2.000	13 ,1	9 ,3	Var.	10 ,8	79	78
N° 43 » 23 » » 29 » » . .	16.000	2.000	9 ,6	1 ,8	N.E	9 ,5	74	78
» » » » » . .	»	»	»	»	»	»	»	»
MOYENNES ET TOTAUX	11.830	2.995	12°,0	57mm,2	Var.	12km,3	311	313
ANNÉE MOYENNE	»	»	»	»	»	»	»	»

OBSERVATIONS. — [1] Sous la rubrique *maladies zymotiques* sont comprises: les fièvres éruptives, la fièvre typhoïde, le choléra et l'atrepsie (choléra infantile). — [2] Au nombre des *maladies saisonnières* ne sont comptées que les affections aiguës des poumons (Bronchite aiguë, Broncho-pneumonie et pneumonie).

Analyse de l'air des égouts (*Moyenne générale*)

Octobre 1893. Bactéries = 4.750 Moisissures = 3.000 Température = 13°,8

Analyse de l'air au Parc de Montsouris

Octobre 1893. Bactéries = 125 Moisissures = 225 Température = 17°,0

Analyses des eaux de Paris et d'autres provenances, *Octobre* 1893

DÉSIGNATION DES EAUX	MOYENNES MENSUELLES DES BACTÉRIES PAR C.M.C.		TEMPÉRAT.	OBSERVATIONS
	Octobre 1893	Année moyenne		
1° Eaux de Source				
Eau de la Vanne à Montrouge.	900	1.250	»	»
» de la Dhuis à Ménilmontant.	300	3.825	»	»
» de l'Avre (réservoir de Villejust). . . .	1.400	3.820	»	»
2° Eaux de Rivières				
Eau de la Marne à Saint-Maur.	54.000	58.430	13°,4	»
» de la Seine à Ivry	97.500	54.280	13°,5	»
» de la Seine au pont d'Austerlitz	102.000	76.810	»	Haut. = 0m,95
» de la Seine au pont de l'Alma.	500.000	200.960	»	»
» de la Seine à Suresnes	480.000	269.000	»	»
3° Eaux de Canal				
Eau de l'Ourcq à la Villette.	87.000	75.845	»	»
» d'autres provenances	»	»	»	»
4° Eaux de Puits				
Puits rue Princesse (Paris)	23.000	»	»	»
» Jardin modèle (Asnières)	154.000	»	»	»
5° Eaux de Drainage				
Drain de Saint-Maur	7.400	3.280	»	»
» d'Epinay	1.000	22.695	»	»
6° Eaux d'égout				
Eaux des collecteurs de Paris	21.500.000	16.340.000	»	»
7° Eaux de vidanges				
Eau du dépotoir de l'Est	8.000.000	27.405.000	»	»
» » traitée à Bondy	»	119.185.000	»	»

PUBLICATIONS RÉCENTES

El. Metchnikoff. — Recherches sur le choléra et les vibrions (1[er] mémoire). (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 403.)

Ch. Chamberland et E. Fernbach. — La désinfection des locaux. (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 433.)

E. Leclainche et L. Montané. — Étude sur l'anatomie pathologique de la morve pulmonaire. (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 480.)

R. Sabouraud. — Étude des tricophyties à dermite profonde. (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 496.)

Dr F. Formé. — Contribution à l'étude des essences au point de vue de leurs propriétés antiseptiques, essences de niaouli et cajeput. (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 529.)

E. Duclaux. — Sur le vieillissement des vins. (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 537.)

A. Pawlowsky et Mag. Maksutoff. — Sur le phagocytose dans l'actinomycose. (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 544.)

N. Sakharoff. — Cils composés trouvés dans les selles d'un cholérique. (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 550.)

M. Nicolle et V. Morax. — Technique de la coloration des cils; cils des vibrions cholériques et des organismes voisins, cils du Bacille typhique et du *Bacillus coli*. (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 554.)

El. Metchnikoff. — Recherches sur le choléra et les vibrions (2[e] mémoire). (*Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, 562.)

L'Éditeur-Gérant : Georges CARRÉ.

Tours. — Imprimerie Deslis Frères.

LISTE ALPHABÉTIQUE DES AUTEURS

DONT LES MÉMOIRES ONT ÉTÉ ANNONCÉS DANS LE TOME V

A

B

C

D

115

TABLE DES MATIÈRES [1]

A

B

(1) Les articles précédés d'un astérisque ont fait l'objet d'un travail original publié dans les *Annales de Micrographie*.

E

F

G

O

P

R

S

Tours. — Imprimerie DESLIS FRÈRES